

表皮生长因子联合血糖控制对糖尿病创面愈合的影响：成纤维细胞生长因子蛋白及其mRNA表达的变化***

宗守凯, 梁自乾, 纪雪亮

Effect of epidermal growth factor combined with blood glucose control on wound healing in diabetes mellitus rats: Changes of fibroblast growth factor protein and its mRNA expressions

Zong Shou-kai, Liang Zi-qian, Ji Xue-liang

Department of Burns and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Zong Shou-kai★, Studying for master's degree, Department of Burns and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Liang Zi-qian, Professor, Master's supervisor, Department of Burns and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Liangzqian@yahoo.com

Supported by: the Science and Technology Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542093*; Graduate Education Innovation Fund of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2009105981002 M198*

Received: 2010-03-13
Accepted: 2010-04-06

Abstract

BACKGROUND: Previous studies demonstrated that acute wound can result in down regulation of endogenous recombinant human epidermal growth factor (rhEGF) and lead to nonunion.

OBJECTIVE: To explore the effects of topical application of rhEGF combined with blood glucose control on the expression of fibroblast growth factor (FGF) on rat scald wound.

METHODS: Wistar diabetic rats were prepared for back deep II degree scald models. The blood glucose levels of rats in the combination group were controlled to the levels of control group at 1 week before operation and were sprayed of rhEGF within 24 hours of scald. Rats in the rhEGF group only sprayed of rhEGF and the fasting blood glucose (FBG) were controlled in the FBG control group. The treatment in the control group was identical to the combination group. The healing rate of the wound was observed and expression of fibroblast growth factor (FGF) protein and mRNA were determined by immunohistochemistry and in situ hybridization at 1, 3, 5, 7, 11, 15 and 21 days after operation.

RESULTS AND CONCLUSION: The expressions of FGF protein and mRNA in all rats were obviously increased in each group after scald, reached a peak at 5-7 and 7-11 days, respectively, in addition, the peak value of the combination and control groups were greater than that of the rhEGF and FBG control group ($P < 0.05$). The healing rates of the combination and control group were greater than that of the rhEGF and FBG control group at 7-21 days after scald ($P < 0.05$). The results demonstrated that external application of rhEGF combined with blood sugar control can accelerate obviously wound healing in diabetes mellitus rats, which may be related to the high expression of FGF.

Zong SK, Liang ZQ, Ji XL. Effect of epidermal growth factor combined with blood glucose control on wound healing in diabetes mellitus rats: Changes of fibroblast growth factor protein and its mRNA expressions. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(37): 6882-6886. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 有研究表明急性创伤可导致内源性的重组人表皮生长因子(recombinant human epidermal growth factor, rhEGF)表达下调, 导致不愈合的发生。

目的: 观察局部应用 rhEGF 联合血糖控制下对糖尿病大鼠烫伤创面成纤维细胞生长因子表达的影响。

方法: 将 Wistar 糖尿病大鼠制备背部深 II 度烫伤模型。联合治疗组于烫伤前 1 周控制血糖至对照组水平, 并在烫伤 24 h 内创面喷洒 rhEGF; rhEGF 组仅创面喷洒 rhEGF; 血糖控制组仅控制血糖; 对照组不制备糖尿病模型, 烫伤后处理同联合治疗组。烫伤后 1, 3, 5, 7, 11, 15, 21 d 取创面皮肤组织采用免疫组织化学染色及原位杂交法检测成纤维细胞生长因子蛋白及 mRNA 的表达, 并观察各组大鼠创面愈合情况。

结果与结论: 烫伤后各组大鼠创面成纤维细胞生长因子蛋白及 mRNA 表达均明显增多, 分别在 5~7 d 及 7~11 d 达高峰, 且联合治疗、对照组峰值较 rhEGF、血糖控制组高($P < 0.05$)。烫伤后 7~21 d, 联合治疗、对照组创面愈合率高于 rhEGF、血糖控制组($P < 0.05$)。说明局部应用 rhEGF 在联合血糖控制下可促进糖尿病大鼠烫伤创面的愈合, 可能与促进创面成纤维细胞生长因子表达有关。

关键词: 糖尿病; 烫伤; 创面愈合; 重组人表皮生长因子; 成纤维细胞生长因子; 大鼠

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.37.010

宗守凯, 梁自乾, 纪雪亮. 表皮生长因子联合血糖控制对糖尿病创面愈合的影响: 成纤维细胞生长因子蛋白及其 mRNA 表达的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(37):6882-6886. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

难愈性创面修复一直是外科关注的问题, 它是一个由多种体内因子、细胞参与的复杂而有序的生物学过程, 这些过程紧密联系而且相互交叉。细胞生长因子能刺激靶细胞分裂增殖和各种组织修复, 增加细胞外基质合成, 在创伤和大面积烧伤创面的修复重建中起着重要的

作用^[1-2]。成纤维细胞存在于皮肤真皮层, 是创面愈合中的主要细胞, 也是构成肉芽组织的主要成分之一, 可以合成和分泌胶原纤维、连接蛋白、透明质酸等细胞外基质, 也可以通过多种细胞因子参与创面修复^[3-4]。

有研究表明急性创伤可以导致内源性的重组人表皮生长因子(recombinant human epidermal growth factor, rhEGF), 成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)等含

量减少和基因表达下调, 导致不愈合的发生^[5-6]。但局部外用rhEGF联合血糖控制对创面FGF的表达将产生怎样的影响尚不清楚。

为此, 实验以糖尿病大鼠大面积烫伤为模型, 局部应用rhEGF和肌肉注射胰岛素干预创面愈合过程, 检测创面皮肤组织中内源性FGF的表达, 分析FGF在rhEGF联合胰岛素干预下的变化, 探讨rhEGF促进创面愈合的可能机制。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2008-12/2009-10在广西医科大学实验动物中心完成。

材料:

实验动物: 健康清洁级雄性Wistar大鼠136只, 体质量(198.3±8.9)g, 由广西医科大学医学实验动物中心提供, 许可证号: SCXX(桂)2003-0003, 实验过程中对动物的处置符合2006年科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》的规定^[7]。

试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
链脲佐菌素	Sigma 公司, 美国
Novolin30R 胰岛素	Nove Nordisk company
rhEGF	深圳华生元基因工程公司
兔抗大鼠 FGF 单克隆抗体、 DAB 试剂盒、FGF mRNA 原位杂交试剂盒	武汉博士德生物工程 有限公司
化学发光试剂盒	Bio-Rad 公司, 美国
全活力型血糖仪及试纸	Roche 公司, 瑞士
Axioskop2 plus 显微镜、 Leica Qwin 图像分析系统	Leica 公司, 德国

方法:

实验分组、造模与干预: 将136只大鼠随机分为4组, 每组34只。造模前各组大鼠血糖为(6.28±1.03)mmol/L, 体质量(198.3±8.9)g。联合治疗、rhEGF、血糖控制组大鼠禁食8h后腹腔内一次性快速注射链脲佐菌素50mg/kg建立大鼠糖尿病模型^[8-9], 对照组注射等量柠檬酸缓冲液作为对照。注射1周后尾静脉采血检测血糖, 造模大鼠血糖为(26.55±6.30)mmol/L, 体质量为(188.6±6.6)g, 说明糖尿病模型制备成功^[10]。每组于模型制备前及制备后1周随机取2只大鼠胰腺组织行抗胰岛素抗体免疫组织化学染色, 观察胰岛细胞破坏情况。

糖尿病模型制备8周后, 取4组大鼠制备深

II度烫伤模型。大鼠以2%戊巴比妥(35mg/kg)腹腔注射麻醉, 背部去毛后置于80℃热水8s, 造成占体表总面积10%的深II度烫伤, 同时腹腔注射10mL林格液抗休克^[11]。联合治疗组于烫伤模型制备前1周每日皮下注射Novoline 30R(40U/mL)胰岛素4~6U/(kg·d), 每日17:00~18:00皮下注射, 根据血糖水平调整胰岛素用量, 控制血糖至对照组水平, 并在烫伤模型制备24h内创面清创后喷洒rhEGF(150U/cm²)^[12], 采用含1%磺胺嘧啶银霜剂辅料缝扎固定, 每日换药; rhEGF组烫伤模型制备前不控制血糖, 伤后处理同联合治疗组; 血糖控制组烫伤模型制备前同联合治疗组方法控制血糖, 模型制备后24h内直接采用含1%磺胺嘧啶银霜剂辅料缝扎固定, 每日换药; 对照组伤后处理同联合治疗组。

创面愈合率测定: 烫伤后3, 7, 11, 15, 21d观察各组大鼠毛色、饮食、尿便、体质量变化及创面愈合情况, 通过透明描图纸描计创面, 利用Leica Owin图像分析系统测量创面面积, 按照公式计算创面愈合率。

$$\text{愈合率} = \frac{\text{原始创面面积} - \text{未愈合创面面积}}{\text{原始创面面积}} \times 100\%$$

创面皮肤组织FGF mRNA检测: 采用原位杂交法检测创面皮肤组织中FGF mRNA的变化。于烫伤后1, 3, 5, 7, 11, 15, 21d, 每组随机取4只大鼠大小为1cm×1cm创面皮肤组织, 等分为0.5cm×1.0cm大小。取其中1块标本采用等渗盐水清洗后, 置于40g/L多聚甲醛中固定6h, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明后石蜡包埋, 连续切片, 片厚6μm; 二甲苯梯度乙醇脱蜡至水, H₂O₂灭活内源性过氧化物酶, 采用以3%柠檬酸按1:100比例稀释的胃蛋白酶暴露mRNA片段, 再经后固定、20μL FGF mRNA寡核苷酸探针杂交液进行杂交, 过夜, 冲洗。根据DAB试剂盒说明书进行苏木精复染, 梯度乙醇脱水干燥, 中性树胶封固。于400倍光镜下观察原位杂交结果, 采用Leica Qwin图像分析系统计数阳性细胞(胞浆染为棕黄、核为蓝色者为阳性细胞)。每张切片选取5个高倍视野, 分别测定每个视野测试区域的平均灰度值(GA)及阳性反应产物的平均灰度值(Ga)和面积分数(Aaa), 计算各视野阳性单位值(positive unit, PU)。

$$\text{PU} = 100 \times (\text{GA} - \text{Ga}) / [(1 - \text{Aaa}) \times \text{G}_{\text{max}}]$$

广西医科大学第一附属医院烧伤整形科, 广西壮族自治区南宁市530021

宗守凯★, 男, 1980年生, 山东省日照市人, 汉族, 广西医科大学在读硕士, 主要从事烧伤免疫及创面修复重建方面的研究。

通讯作者: 梁自乾, 教授, 硕士生导师, 广西医科大学第一附属医院烧伤整形科, 广西壮族自治区南宁市530021
Liangzqian@yahoocom

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225(2010)37-06882-05

收稿日期: 2010-03-13
修回日期: 2010-04-06
(20100122008/WLM·Z)

G_{max} 为图像分析仪器的最大灰度值($G_{max}=225$), 以平均值作为该标本PU值^[13]。

创面皮肤组织FGF蛋白检测: 取经石蜡包埋的创面皮肤组织, 连续切片于多聚赖氨酸处理后的玻片, 片厚4 μm , 经二甲苯梯度乙醇脱蜡至水; H_2O_2 灭活过氧化物酶, 微波加热修复抗原, 山羊血清封闭, 滴加兔抗大鼠FGF单克隆抗体4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜; 滴加生物素化羊抗兔IgG, 37 $^\circ\text{C}$, 20 min。DAB显色, 苏木精轻度复染, 脱水, 透明, 中性树胶封固, 光镜下观察。采用Leica Owin图像分析系统计数阳性细胞(细胞成棕黄色染色, 为阳性细胞), 计算各视野PU值。

主要观察指标: 诱导糖尿病前后胰岛组织病理学变化及创面组织中FGF蛋白及mRNA的表达。

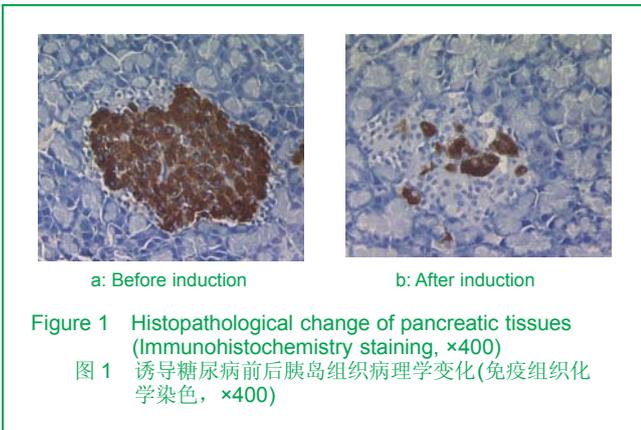
设计、实施、评估者: 设计为第一作者, 实施为全部作者, 评估为第一作者、通讯作者, 参与者均受过正规培训。

统计学分析: 采用SPSS 13.0统计软件包进行分析。数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用方差分析, 两两比较采用SNK检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验用大鼠136只, 每组34只, 造模后rhEGF、血糖控制组分别有2只和3只死亡, 造模后, 4组中各随机取1只大鼠进行胰腺组织免疫组织化学染色观察。之后各组中分别随机抽取30只, 进行后续实验。120只大鼠进入结果分析。

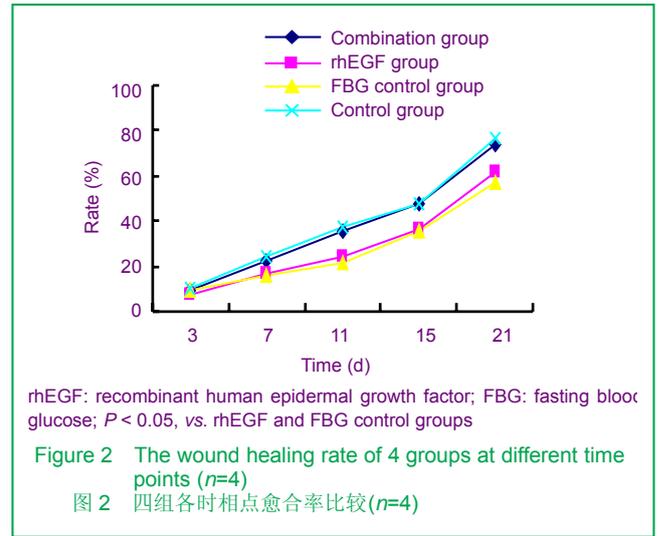
2.2 胰腺组织免疫组织化学染色结果 造模前抗胰岛素抗体免疫组织化学染色显示各组染色较充分, 胰岛细胞分泌胰岛素正常。造模后1周染色区域明显减小, 染色变浅, 见图1。



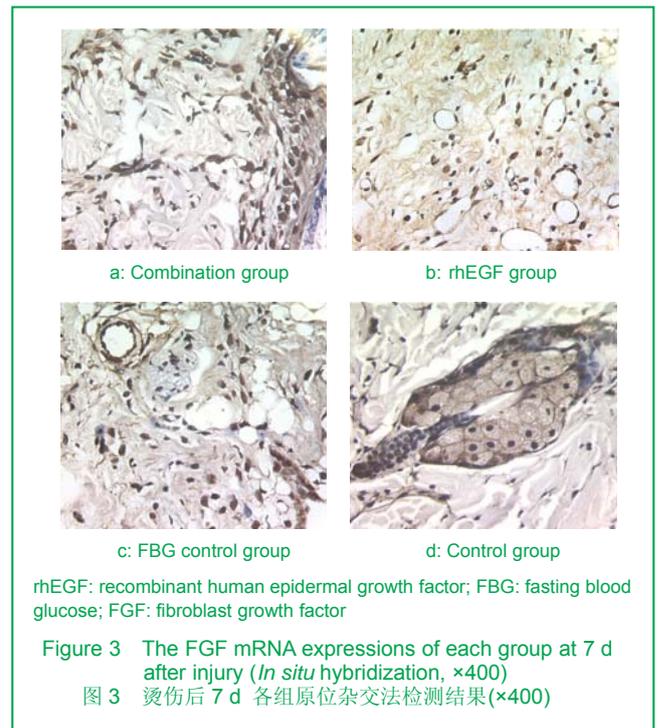
2.3 大鼠的一般情况及创面愈合率 糖尿病模型制备后联合治疗、rhEGF、血糖控制组大鼠多精神萎靡, 皮毛逐渐缺乏光泽, 不光滑, 色灰黄; 24 h后联合治疗、rhEGF、血糖控制组大鼠出现尿量明显增加, 其后摄食

量及饮水量较对照组大鼠逐渐增加; 48 h后联合治疗、rhEGF、血糖控制组大鼠体质量开始减少, 对照组大鼠体质量逐渐增加。

烫伤后3 d各组大鼠创面愈合均较慢; 伤后7~21 d各组大鼠创面愈合均增快, 以联合治疗、对照组最明显, 高于rhEGF、血糖控制组($P < 0.05$); 联合治疗、对照组间及rhEGF、血糖控制组间创面愈合率比较, 差异均无显著性意义($P > 0.05$), 见图2。

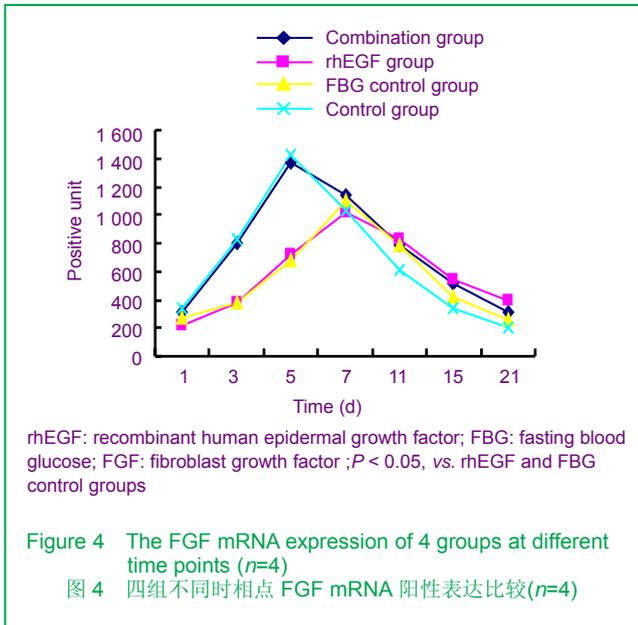


2.4 大鼠创面皮肤组织FGF mRNA的表达 各组烫伤后各时间点均可见FGF mRNA的表达, 分布位置主要集中在创面基底部分、新生的肉芽组织的真皮中成纤维细胞, 毛细血管内皮细胞及残存的皮肤附属器上皮中, 主要分布在胞浆内, 少数分布于胞核, 见图3。

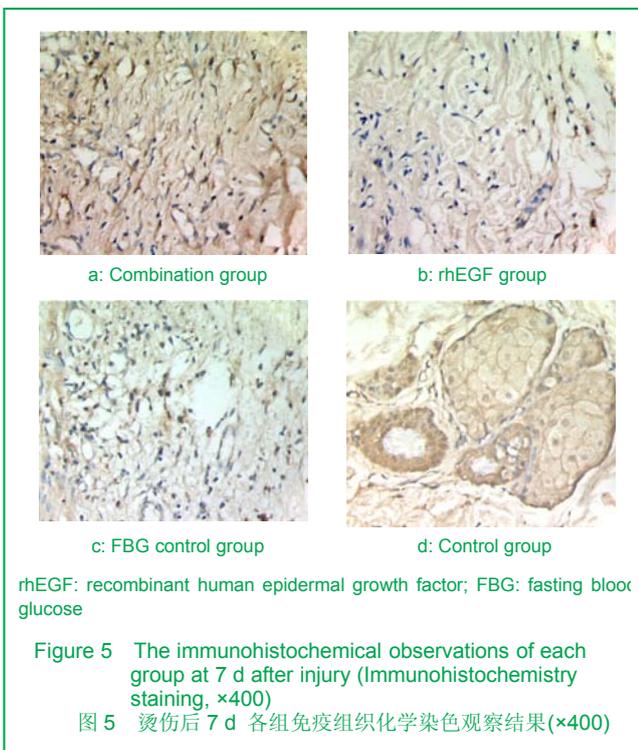


统计结果显示, 各组大鼠烫伤后创面皮肤组织FGF

mRNA的表达均随时间增加逐渐增强, 于5~7 d时表达达峰值, 且联合治疗、对照组峰值较rhEGF、血糖控制组高($P < 0.05$), 联合治疗、对照组间及rhEGF、血糖控制组间峰值差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图4。

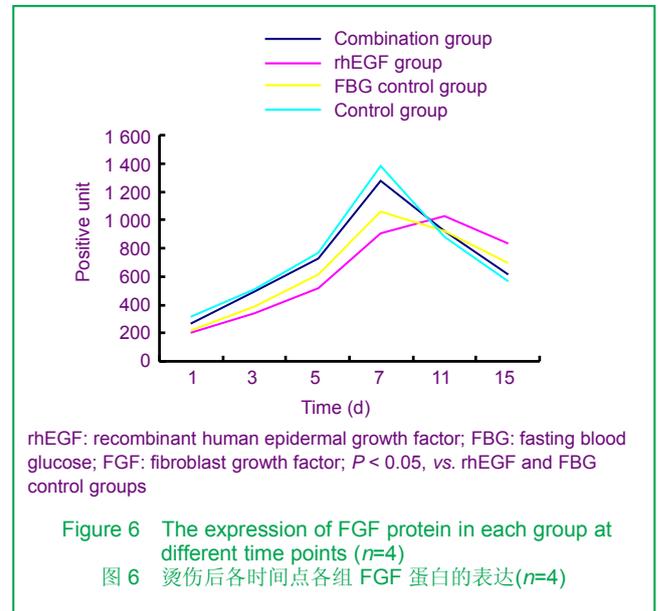


2.5 大鼠创面皮肤组织FGF蛋白的表达 免疫组织化学结果显示, 各组均有FGF蛋白的表达, 阳性细胞首先主要表达在近创缘组织中, 创面基底部表达逐渐增强, 其后在新生的肉芽组织和表皮细胞中亦有表达, 但维持水平及时间各组存在明显差异, 见图5。



烫伤后1 d各组创面组织FGF蛋白表达水平较低, 联合治疗、对照组间, rhEGF、血糖控制组间不存在差

异, 而rhEGF、血糖控制组与对照组存在差异($P < 0.05$); 联合治疗、rhEGF、血糖控制、对照组分别于烫伤后7, 11, 7, 7 d达高峰, 联合治疗、对照组峰值较rhEGF、血糖控制组高($P < 0.05$); 联合治疗、对照组间及rhEGF、血糖控制组间峰值差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图6。



3 讨论

生长因子在创伤修复和组织再生方面的作用已得到证实^[14-15]。但受传统组织再生观念的束缚, 生长因子是如何促进创面愈合的尚不清楚, 其根本原因在于人们对于创面愈合过程中复杂的网络调控机制缺乏了解, 因此, 彻底揭示生长因子, 如转化生长因子 β , EGF, 以及FGF等在全类损伤愈合中的网络作用, 仍是目前最为紧迫的研究工作之一。通过对正常组织再生、过度增生以及难愈创面的生长因子信号通道调节的研究, 经人为干预和调控, 将获得理想的修复结局^[16-17]。为此实验研究了EGF在创面愈合过程中对FGF蛋白及mRNA表达的影响。

实验观察了各组动物创面愈合率的变化趋势, 发现各组创面愈合率均随时间的推移逐渐升高; 伤后7, 11, 15, 21 d各时相点创面愈合率rhEGF、血糖控制组均明显低于对照组($P < 0.05$), 而联合治疗组与对照组无明显差异, 这一现象一方面说明了糖尿病性创面确实存在临床上所见的愈合延缓的现象, 另一方面也说明了单独使用胰岛素或单独外用rhEGF都无法达到预期的促进创面愈合的目的; 通过联合治疗组的愈合速度可以推测在控制血糖的情况下rhEGF才能更好的发挥促进创面愈合的作用。

实验结果表明, 在rhEGF、血糖控制组创面处FGF蛋白及其mRNA的表达量较对照组低。在控制血糖良好

的情况下, rhEGF有明显的刺激FGF mRNA及其蛋白的表达的作用, 与对照组比较, 联合治疗组FGF mRNA和蛋白的表达未见明显差异, 可见其基因转录, 翻译过程中没有受到明显影响; 与之比较, 血糖控制组血糖虽然得到控制, 因缺乏EGF的作用, 创面皮肤组织中FGF mRNA及其蛋白表达仍存在滞后现象; 这可能与长时间的高糖状态使机体处于一种相对反应状态有关^[18-19]; 而rhEGF组, 由于血糖没有得到有效控制, 使创面皮肤组织仍然处在高糖环境中, 外源性EGF的激发作用不能够得到较好的发挥, 创面FGF mRNA及其蛋白表达不够协调同步, 导致刺激细胞分裂增殖的后续信号受到限制或延缓, 创面愈合明显延迟。

可见, rhEGF在创面愈合过程中有着重要的作用, 但是创面愈合是多因素、多环节共同作用的结果^[20-22]。在糖尿病性创面中, 存在着更多的负面影响因素, rhEGF只是一个节点。另外实验的血糖控制采用全身应用胰岛素的方式, 而全身应用加局部应用效果是否会更突出尚有待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Miu SK, Peng B, Yang YX, et al. Sichuan Shengli Kexue Zazhi. 2007;29(3):107-108.
缪世坤, 彭波, 杨云霞, 等. 重组人表皮生长因子对大鼠皮肤烧伤愈合的促进作用[J]. 四川生理科学杂志, 2007, 29(3):107-108.
- [2] Zhang XL, Zhang BL. Zhongguo Meirong Yixue. 2008;17(1):62-66.
张晓玲, 张宝林. rhbFGF和rhEGF对成纤维细胞的促增殖作用[J]. 中国美容医学, 2008, 17(1):62-66.
- [3] Fu X, Yang Y, Li X, et al. Ischemia and reperfusion impair the gene expression of endogenous basic fibroblast growth factor (bFGF) in rat skeletal muscles. J Surg Res. 1998;80(1):88-93.
- [4] Niu YW, Lu SL, Xie T, et al. Shanghai Jiaotong Daxue Xuebao: Yixue Ban. 2006;26(1):63-65.
牛轶雯, 陆树良, 谢挺, 等. 糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面成纤维细胞生物学行为的改变[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26(1):63-65.
- [5] Fu X, Cuevas P, Gimenez-Gallego G, et al. Ischemia and reperfusion reduce the endogenous basic fibroblast growth factor in rat skeletal muscles: an immunohistochemical study. Wound Repair Regen. 1996;4(3):381-385.
- [6] Zong SK, Liang ZQ, Ou BJ. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2010;24(2):150-155.
宗守凯, 梁自乾, 欧邦军. 局部应用重组人EGF对糖尿病大鼠烫伤创面EGF受体及其mRNA表达的影响. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(2):150-155.
- [7] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.
- [8] Zhang JT. Beijing: Beijing Medical University, Peking Union Medical University Joint Publishing House. 1998:982-992.
张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998:982-992.
- [9] Zhang DM, Wei SW, Duan HG, et al. Lanzhou Daxue Xuebao: Yixue Ban. 2008;34(3):17-19.
张冬梅, 魏素文, 段好刚, 等. 链脲佐菌素诱导制备糖尿病大鼠模型方法学考察[J]. 兰州大学学报: 医学版, 2008, 34(3):17-19.
- [10] Huang X, Cui L, Cao YL. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2007;3(4):186-188.
黄昕, 崔磊, 曹谊林. STZ诱导裸鼠糖尿病模型的建立及观察[J]. 组织工程与重建外科, 2007, 3(4):186-188.
- [11] Feng SJ, Hua LN, Jin SW, et al. Shanghai Jiaotong Daxue Xuebao: Yixue Ban. 1995;15(3):195-197.
冯世杰, 花兰女, 金曙雯, 等. 大鼠烫伤模型的制作[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 1995, 15(3):195-197.
- [12] Fu XB, Sun XQ, Sun TZ, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2002;16(1):31-35.
付小兵, 孙晓庆, 孙同柱, 等. 表皮细胞生长因子通过诱导皮肤干细胞分化加速创表皮再生的研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2002, 16(1):31-35.
- [13] Shen H. Zhongguo Zuzhi Huaxue yu Xibao Huaxue Zazhi. 1995;4(1):89-92.
申洪. 免疫组织化学染色定量方法研究(III)[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1):89-92.
- [14] Fu XB, Sun TZ, Yang YH, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2001;15(6):321-324.
付小兵, 孙同柱, 杨银辉, 等. 表皮细胞生长因子和碱性成纤维细胞生长因子在不同发育阶段大鼠皮肤表达特征的比较性研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2001, 15(6):321-324.
- [15] Bitto A, Minutoli L, Altavilla D, et al. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. Pharmacol Res. 2008;57(2):159-169.
- [16] Wang ZG, Fu XB, Zhou YG. Fuzhou: Fujian Kexue Jishu Chubanshe. 2004:460.
王正国, 付小兵, 周元国. 分子创伤学[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2004:460.
- [17] Li JF, Fu XB, Sheng ZY, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2006;20(3):264-267.
李建福, 付小兵, 盛志勇, 等. 创面愈合过程中创缘表皮干细胞的异位[J]. 中国修复重建外科杂志, 2006, 20(3):264-267.
- [18] Saad S, Stevens VA, Wassef L, et al. High glucose transactivates the EGF receptor and up-regulates serum glucocorticoid kinase in the proximal tubule. Kidney Int. 2005;68(3):985-997.
- [19] Wu J, Xue XD, Liu JL, et al. Zhongguo Xiufu Chongjian Waikexue Zazhi. 2009;23(12):1482-1486.
吴建, 薛晓东, 刘俊玲, 等. 胰岛素局部应用对老龄糖尿病大鼠烫伤创面愈合的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2009, 23(12):1482-1486.
- [20] Liu Y, Zhang X, Zhang Z, et al. Zhonghua Shaoshang Zazhi. 2004;20(2):98-101.
刘琰, 章雄, 张志, 等. 局部应用胰岛素对烫伤大鼠创面愈合的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2004, 20(2):98-101.
- [21] Yahata Y, Shirakata Y, Tokumaru S, et al. A novel function of angiotensin II in skin wound healing. Induction of fibroblast and keratinocyte migration by angiotensin II via heparin-binding epidermal growth factor (EGF)-like growth factor-mediated EGF receptor transactivation. 2006;281(19):13209-13216.
- [22] Yousif MH, Benter IF, Akhtar S. The role of tyrosine kinase-mediated pathways in diabetes-induced alterations in responsiveness of rat carotid artery. Auton Autacoid Pharmacol. 2005;25(2):69-78.

来自本文课题的更多信息一

基金资助: 广西壮族自治区科技厅资助项目(桂科自0542093); 广西研究生教育创新计划基金(2009105981002M198)。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的创新点: 实验设计旨在解决局部外用重组人表皮生长因子联合注射胰岛素控制血糖干预应用于糖尿病合并烧伤大鼠创面, 通过形态学及组织学对创面皮肤组织中成纤维细胞生长因子蛋白及其 mRNA 的表达进行检测, 从分子水平研究了局部外用重组人表皮生长因子对促进糖尿病创面愈合的作用机制。

课题评估的“金标准”: 实验直接测量了创面的愈合率, 并采用免疫组织化学及原位杂交技术检测成纤维细胞生长因子蛋白及其 mRNA 的表达, 可以得到较为准确结果。

设计或课题的偏倚与不足: 实验结果虽证实了局部外用重组人表皮生长因子联合注射胰岛素控制血糖可以有效地促进创面的愈合, 但是影响糖尿病创面愈合的因素是多方面的。实验中的胰岛素是全身应用的, 局部单用胰岛素及局部外用重组人表皮生长因子联合局部应用胰岛素能否取得同样的甚至更好的疗效有待进一步研究。

提供临床借鉴的价值: 研究显示糖尿病难愈创面愈合涉及创面细胞、细胞外基质、细胞因子及其受体以及信号转导等多因素、多环节作用失控, 对糖尿病难愈创面的分子机制的研究, 不仅能够深层次的阐明糖尿病难愈的机制, 同时也是对难愈创面形成机制研究的重要补充, 为临床上治疗糖尿病难愈创面提供了理论依据。