

正极性聚丙烯驻极体对糖尿病大鼠皮肤结构的影响

苑 旺¹, 梁媛媛², 崔黎丽¹, 江 键², 王美玲², 石 岩³

1. 第二军医大学药学院无机化学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学基础部数理教研室, 上海 200433; 3. 第二军医大学海军医学系, 上海 200433

【摘要】目的:研究正极性驻极体作用在大鼠皮肤两侧形成静电场的稳定性, 以及对糖尿病大鼠皮肤结构的影响, 进而明确驻极体在经皮给药系统中对药物的促渗机制。**方法:**利用栅控恒压电晕充电系统制备不同表面电位的正极性聚丙烯驻极体。以糖尿病大鼠皮肤为研究对象, 正常大鼠皮肤为对照, 利用等温表面电位衰减测量大鼠皮肤两侧静电场的稳定性, 利用光镜研究驻极体对糖尿病大鼠皮肤显微结构的影响。**结果:**(1)+1500 V 驻极体作用糖尿病大鼠皮肤 24 h, 透过大鼠皮肤的等效表面电位可达驻极体初始表面电位的 $(61.78 \pm 2.38)\%$, 且初始表面电位随时间衰减缓慢, 表明大鼠皮肤处于较稳定的静电场中;(2)随着驻极体作用时间的延长, 糖尿病大鼠皮肤角质层逐渐增厚, 表皮层和真皮层细胞排列有序性增加, 但是与正常大鼠皮肤相比, 仍比较松散。**结论:**(1)正极性驻极体在糖尿病大鼠皮肤两侧形成了一定强度且稳定的静电场;(2)正极性驻极体产生的静电场, 可以一定程度地改善大鼠皮肤的显微结构, 而且角质层和表皮层细胞排列仍然松散, 有利于大分子药物的经皮转运。

【关键词】驻极体; 静电场; 糖尿病; 大鼠; 皮肤; 显微结构; 经皮给药

【中图分类号】R312; R587.1

【文献标识码】A

【文章编号】1005-202X(2015)06-0835-06

Effects of positive electrets on skin structure of diabetic rats

YUAN Wang², LIANG Yuan-yuan², CUI Li-li¹, JIANG Jian², WANG Mei-ling², SHI Yan³

1. Department of Inorganic Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Physics and Mathematics, School of Basic Medical Science, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Faculty of Naval Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Abstract: Objective To discuss the medicine absorption-promoting mechanism of positive electrets in transdermal administration system by studying on the stability of the electrostatic field caused by the influences of positive electrets on both sides of rat skin, and the effects on skin structure of diabetic rats. **Methods** The positive polypropylene electrets with different surface potential were prepared by grid-controlled constant corona charge system. The skins of diabetic rats were treated as study objects, and the skins of normal rats were used as control group. The stability of the electrostatic field on both sides of the rat skin was measured based on isothermal surface potential decay, and the effects on skin microscopic structure of diabetic rats were analyzed by optical microscopy. **Results** After electrets of +1500 V acted on rat skin for 24 h, electrets could penetrate through the equivalent surface potential of rat skin and achieve $(61.78 \pm 2.38)\%$ of the electrets initial surface potential. And the initial surface potential decayed slowly with time, which showed that the rat skin was in a stable electrostatic field. With the prolonged action time of electrets, the stratum corneum of diabetic rat skin was gradually thickener, and the cells of epidermis and dermis were more orderly, however, the cell arrangement of diabetic rat skin was still looser than that of the normal rat skin. **Conclusion** Positive electrets create a stable electrostatic field on both sides of the diabetic rat skin. The created electrostatic field improves the microscopic structure of the diabetic rat skin, and the stratum corneum and epidermis cells of diabetic rats still arrange loosely, making transdermal administration of macromolecular medicine possible.

Key words: electret; electrostatic field; diabetes; rat skin; microscopic structure; transdermal administration

【收稿日期】2015-07-22

【基金项目】国家自然科学基金(51477175)

【作者简介】苑 旺(1989-), 男, 硕士研究生, 主要从事驻极体促进胰岛素纳米粒经皮给药的研究。E-mail: yuanwang1115@126.com。

梁媛媛(1982-), 女, 讲师, 主要从事驻极体促进药物经皮吸收及其机制的研究。E-mail: liangyy_208@163.com。

【通信作者】崔黎丽(1961-), 女, 教授, 研究生导师, 主要从事物理药剂学研究。E-mail: cuilili39@hotmail.com。

前言

糖尿病是一种慢性代谢性疾病,除了“三多一少”的典型症状外,不少糖尿病患者往往伴有多种并发症,其中糖尿病皮肤病变是危害人类健康的糖尿病重要并发症之一^[1]。本文以糖尿病大鼠皮肤为研究对象,将正极性驻极体作用于大鼠皮肤,观察驻极体的静电场对糖尿病大鼠皮肤结构的影响,为药物的经皮转运奠定机制基础,为糖尿病皮肤病的治疗探寻新方法。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

聚丙烯(Polypropylene, PP)薄膜(日本 TORAY FAN BO 株式会社);链脲佐菌素(STZ)(美国 Sigma 公司);乌拉坦、磷酸二氢钾、氢氧化钠、氯化钠等(中国医药集团上海化学试剂公司);雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠(200±10) g,共 54 只(第二军医大学实验动物中心提供)。

1.2 仪器

栅控恒压电晕充电系统(大连理工大学静电与特种电源研究所);ESR102A 型振动电容静电计(北京华晶汇科技有限公司);FA2004B 电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司);血糖仪(OneTouch®UltraEasy™, 美国强生公司)。

1.3 方法

1.3.1 驻极体的制备 选取来自同卷的双裸面的 PP 膜作为驻极体材料,采用栅控恒压电晕充电系统对其进行充电,电晕电压为+15 kV,栅压分别为+500 V、+1000 V、+1500 V,充电时间 5 min,分别制备成+500 V 驻极体、+1000 V 驻极体和+1500 V 驻极体,驻极体表面电位用振动电容静电计测定。

1.3.2 糖尿病大鼠模型的建立 将 27 只健康 SD 大鼠适应性饲养 2 周。造模前禁食不禁水 12 h 以上,按剂量 60 mg/kg 腹腔注射 STZ 溶液,常规饲养 3 d 后,尾静脉采血,血糖仪测定大鼠血糖浓度。连续测定 1 周,若大鼠的血糖浓度均大于 16 mmol/L,则糖尿病大鼠造模成功^[2]。

1.3.3 皮肤样品的制备 正常大鼠和糖尿病大鼠,按 0.5 mL/kg 腹腔注射 20% 乌拉坦。麻醉后,取仰卧位固定于操作台上。选取腹部中线两侧对称部位皮肤作为取皮区,剃毛,过夜自修复。

过量麻醉法处死大鼠,取皮,将皮肤样品置于-20℃冰箱冻存。实验时,以腹中线为轴,一侧皮肤用于电

压衰减测量实验,对侧皮肤用于皮肤显微结构观察实验。

1.3.4 实验方法

1.3.4.1 实验分组 驻极体透过大鼠皮肤表面电位衰减实验分组:(a)正常大鼠组:+500 V 驻极体实验组($n=6$);+1000 V 驻极体实验组($n=6$);+1500 V 驻极体实验组($n=6$)。(b)糖尿病大鼠组:+500 V 驻极体实验组($n=6$);+1000 V 驻极体实验组($n=6$);+1500 V 驻极体实验组($n=6$)。皮肤显微结构实验分组:(a)正常大鼠组:空白对照组($n=3$);+1500 V 驻极体作用 4 h 组($n=3$);+1500 V 驻极体作用 8 h 组($n=3$)。(b)糖尿病大鼠组:实验对照组($n=3$);+1500 V 驻极体作用 4 h 组($n=3$);+1500 V 驻极体作用 8 h 组($n=3$)。

1.3.4.2 驻极体透过皮肤表面电位衰减的测定 将冻存的正常大鼠皮肤和糖尿病大鼠皮肤分别于 PBS 缓冲液中解冻,滤纸擦干。将皮肤角质层面分别置于+500 V 驻极体、+1000 V 驻极体和+1500 V 驻极体的充电面上,经不同表面电位正极性驻极体分别作用 0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、12 h、16 h、20 h、24 h 后测量透过大鼠皮肤的驻极体等效表面电位值,确定驻极体作用皮肤的电场强度及其稳定性。

1.3.4.3 驻极体作用后大鼠皮肤结构的显微观察 将测定表面电位衰减皮肤的对侧皮肤用于显微观察实验。将冻存的正常大鼠皮肤和糖尿病大鼠皮肤于 PBS 缓冲液中解冻,滤纸擦干,将皮肤的角质层面与不同表面电位(+500 V、+1000 V、+1500 V)正极性驻极体的充电面紧密接触,分别于 0 h、4 h、8 h 后取皮肤样品,固定于 4% 多聚甲醛中。24 h 后,皮肤组织经脱水、石蜡包埋处理、H-E 染色、制作成光镜标本,然后切片置于 Olympus SF07103 照相显微镜下观察和拍摄。并采用 Image J 软件测量正常大鼠和糖尿病大鼠皮肤各层的厚度。

1.3.5 统计方法 实验数据采用 SPSS18.0 统计学软件(美国 IBM 公司),进行重复测量设计资料的方差分析和 t 检验,以 $P<0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 透过正常大鼠和糖尿病大鼠皮肤驻极体等效表面电位的稳定性

2.1.1 透过正常大鼠皮肤驻极体等效表面电位的稳定性 图 1 为+500 V、+1000 V 和+1500 V 驻极体作用于正常大鼠皮肤后,透过皮肤的等效表面电位随时间的变化曲线。结果显示:(1)在最初的 1 h 以内,3

种不同表面电位的驻极体透过皮肤的表面电位急剧下降,以后基本不随时间变化或变化缓慢,表明在驻极体作用下,大鼠皮肤两侧有一个相对稳定的静电场;(2)+500 V、+1000 V、+1500 V驻极体作用于正常大鼠皮肤 24 h,透过皮肤形成的等效表面电位分别为驻极体初始电位的 $33.10\% \pm 1.25\%$ 、 $48.22\% \pm 1.12\%$ 、 $52.42\% \pm 1.06\%$,即大鼠皮肤两侧保留约 $379 \text{ V} \pm 18 \text{ V}$ 、 $552 \text{ V} \pm 22 \text{ V}$ 、 $725 \text{ V} \pm 15 \text{ V}$ 的电位差。由于皮肤两侧电位差的存在,使皮肤处于一定强度静电场的作用下,诱导大鼠皮肤结构的微观改变;(3)作用于大鼠皮肤两侧的电场强度,随驻极体初始表面电位的增加而增大。

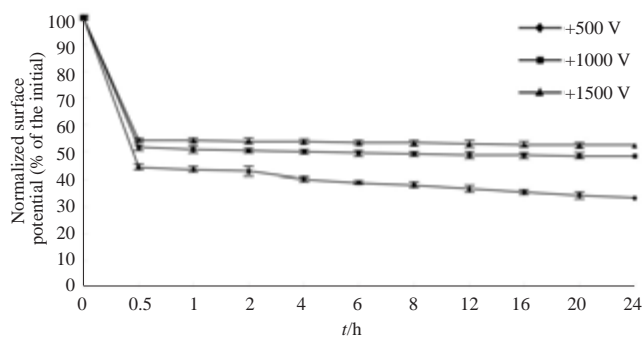


图1 +500 V、+1000 V、+1500 V驻极体透过正常大鼠皮肤的等效表面电位衰减曲线($n=6$)

Fig.1 Equivalent surface potential decay curve when electrets of +500 V, +1000 V, +1500 V respectively penetrated through the normal rat skin ($n=6$)

2.1.2 透过糖尿病大鼠皮肤驻极体等效表面电位的稳定性 图2给出了+500 V、+1000 V和+1500 V驻极体作用于糖尿病大鼠皮肤后,透过大鼠皮肤的等效表面电位随时间的变化曲线。结果显示+500 V、+1000 V、+1500 V驻极体作用于糖尿病大鼠皮肤 24 h,透过皮肤形成的等效表面电位分别为驻极体初始电位的 $(46.66 \pm 2.16)\%$ 、 $(57.22 \pm 0.38)\%$ 、 $(61.78 \pm 2.38)\%$,即大鼠皮肤两侧保留约 $(293 \pm 2) \text{ V}$ 、 $(421 \pm 7) \text{ V}$ 、 $(586 \pm 9) \text{ V}$ 的电位差。比较图1和图2可以发现:(1)+500 V、+1000 V、+1500 V驻极体作用于糖尿病大鼠后,透过大鼠皮肤的等效表面电位随时间的变化规律与驻极体作用于正常大鼠皮肤相似;(2)糖尿病大鼠皮肤两侧存在相对稳定静电场,且电场强度随驻极体等效表面电位的增加而提高;(3)相同表面电位驻极体作用正常大鼠皮肤和糖尿病大鼠皮肤相同时间,正常大鼠皮肤两侧的电场强度均大于糖尿病大鼠皮肤两侧的电场强度,即透过糖尿病大鼠皮肤的

驻极体等效表面电位均高于透过正常大鼠皮肤的驻极体等效表面电位。

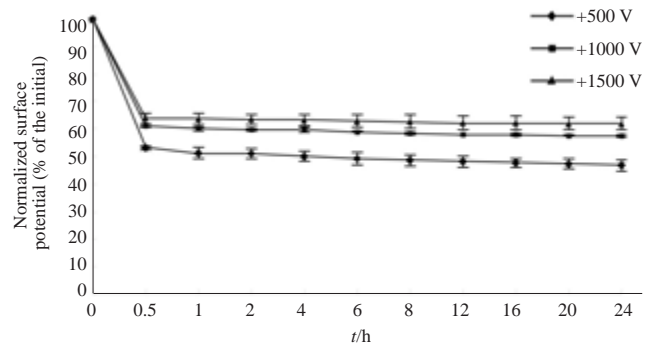


图2 +500 V、+1000 V、+1500 V驻极体透过糖尿病大鼠皮肤的等效表面电位衰减曲线($n=6$)

Fig.2 Equivalent surface potential decay curve when electrets of +500 V, +1000 V, +1500 V respectively penetrated through the diabetic rat skin ($n=6$)

图3给出了不同表面电位正极性驻极体作用于正常大鼠皮肤和糖尿病大鼠皮肤 24 h后,透过大鼠皮肤的等效表面电位值占驻极体初始表面电位的百分比。结果显示+500 V、+1000 V、+1500 V驻极体作用于糖尿病大鼠皮肤 24 h,透过皮肤形成的等效表面电位值均高于驻极体透过正常大鼠皮肤的等效表面电位值,分别为驻极体透过正常大鼠皮肤等效表面电位值的1.41倍、1.11倍、1.21倍。

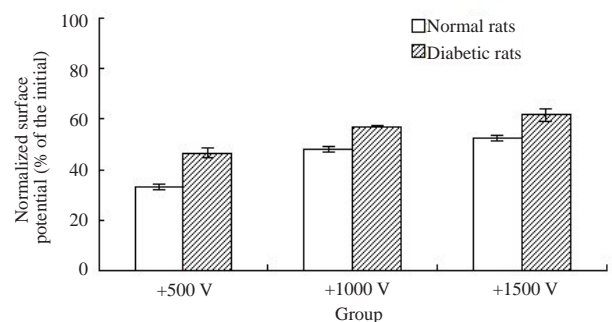


图3 +500 V、+1000 V、+1500 V驻极体作用 24 h后透过大鼠皮肤的等效表面电位($n=6$)

Fig.3 Equivalent surface potential after electrets of +500 V, +1000 V, +1500 V respectively acted on the rat skin for 24 h ($n=6$)

2.2 正常大鼠和糖尿病大鼠皮肤的显微结构

2.2.1 正常大鼠皮肤显微结构 为了研究驻极体对大鼠皮肤结构的影响,本文通过光学显微镜观察经+1500 V驻极体作用 4 h和 8 h后大鼠皮肤的显微结构。图4a、4b和4c分别为正常大鼠皮肤和+1500 V

驻极体作用正常大鼠4 h和8 h后皮肤的显微结构, 如图4所示。结果显示:(1)正常大鼠皮肤角质层细胞排列紧密、完整,表皮层排列完整且连续,真皮层胶原网状结构清晰可见;(2)驻极体作用4 h后,大鼠皮肤结构发生改变,皮肤角质层变薄且角质细胞排列

变疏松,角质层外侧细胞易发生脱落;(3)当驻极体作用大鼠皮肤8 h后,皮肤角质层变得更薄,角质细胞排列更加疏松,细胞间隙增大。这表明驻极体对大鼠皮肤结构的改变随时间成正相关趋势。这对研究驻极体促药物经皮转运的机制研究奠定了基础。

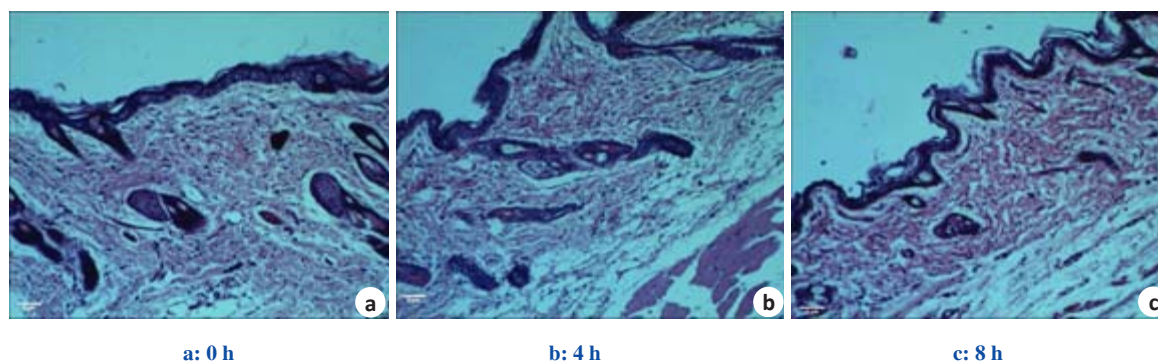


图4 +1500 V驻极体作用后正常大鼠皮肤光镜图像(HE, $\times 400$, bar=4 μm)

Fig.4 Optical microscopic images of normal rat skin affected by electret of +1500 V (HE, $\times 400$, bar=4 μm)

2.2.2 糖尿病大鼠皮肤显微结构 图5为驻极体作用于糖尿病大鼠皮肤4 h和8 h后皮肤组织的光学显微结构。图5a为未经驻极体作用的糖尿病大鼠的显微结构,图5b和图5c分别为驻极体作用4 h和8 h后糖尿病大鼠皮肤的显微结构。比较图4a和图5a可以发现,糖尿病大鼠皮肤角质层结构较正常大鼠皮肤角质层薄,角质层细胞排列也松散无序,细胞间隙较大,较难清晰地辨析表皮层,皮下脂肪及真皮层胶原

网状结构萎缩或消失。将+1500 V驻极体作用于糖尿病大鼠皮肤4 h后(图5b),皮肤角质层稍微增厚,表皮层及真皮层细胞排列有序性增强;当作用时间达到8 h时,皮肤角质层变得更厚,细胞排列有序性明显增强,表明正极性驻极体对糖尿病大鼠皮肤结构有改善作用,且驻极体对皮肤结构的改变随时间的延长而增强。但与正常大鼠皮肤相比,细胞排列仍然松散。

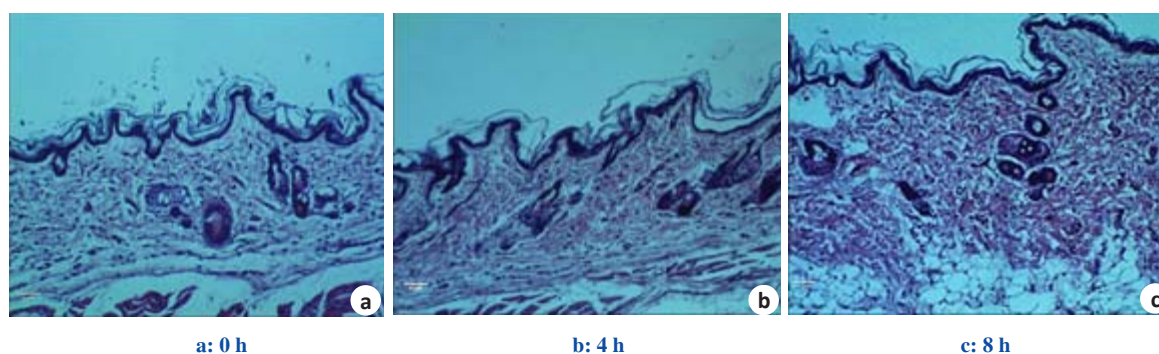


图5 +1500 V驻极体作用后糖尿病大鼠皮肤光镜图像(HE, $\times 400$, bar=4 μm)

Fig.5 Optical microscopic images of diabetic rat skin affected by electret of +1500 V (HE, $\times 400$, bar=4 μm)

2.2.3 皮肤显微结构测量 为了进一步量化驻极体对皮肤结构的改变规律,本文采用Image J(美国国立卫生研究院)软件测量了正常大鼠、糖尿病大鼠皮肤,以及经驻极体作用4 h和8 h的皮肤角质层和(表皮

层+真皮层)的厚度,每个样品选取5个点进行测量。测量结果如表1所示:(1)糖尿病大鼠皮肤角质层、(表皮层+真皮层)厚度均较正常大鼠皮肤明显变薄($P<0.05$);(2)+1500 V驻极体作用4 h,糖尿病大鼠皮

表1 +1500 V 聚丙烯驻极体对糖尿病模型大鼠表皮厚度的影响($n=3$, μm , $\bar{x} \pm s$)Tab.1 Effects of +1500 V polypropylene electret on the thickness of the diabetic rat skin ($n=3$, μm , $\text{Mean} \pm \text{SD}$)

Item	Normal rat skin	Diabetic rat skin	Diabetic rat skin after electret acting on the skin for 4 h	Diabetic rat skin after electret acting on the skin for 8 h
Corneum	1.92 \pm 0.17	0.79 \pm 0.08 [△]	0.84 \pm 0.06	1.07 \pm 0.08 [▲]
Epidermis+Dermis	33.70 \pm 2.24	23.21 \pm 2.36 [#]	24.56 \pm 1.54	28.69 \pm 0.85 [*]

Note: [△] showed the comparison between the thickness of the stratum corneum of diabetic rat skin and that of normal rat skin, $P<0.05$;

[#] showed the comparison between the thickness of the epidermis and dermis of the diabetic rat skin and that of normal rat skin, $P<0.05$;

[▲] showed the comparison between the thickness of the stratum corneum of diabetic rat skin and that of diabetic rat skin affected

by electrets acting for 8 h, $P<0.05$; ^{*} showed the comparison between the thickness of the epidermis and dermis of the diabetic rat

skin and that of diabetic rat skin affected by electrets for 8 h, $P<0.05$.

肤角质层和(表皮层+真皮层)厚度比0 h有增厚的趋势,但是厚度改变并无统计学意义($P>0.05$);(3)+1500 V驻极体作用8 h,糖尿病大鼠皮肤角质层和(表皮层+真皮层)厚度增厚明显,与0 h厚度相比有统计学意义($P<0.05$),但是与正常大鼠皮肤相比,角质层和(表皮层+真皮层)厚度仍明显变薄。

3 讨论

糖尿病是常见的内分泌系统代谢疾病,根据国际糖尿病联盟公布的“糖尿病地图”,可以清楚地看到糖尿病的发病率逐年提高,中国的糖尿病患者数居世界之首,与此同时糖尿病治疗费用给社会带来了巨大的经济负担^[3]。

胰岛素是治疗糖尿病最主要、最有效的药物,由于胰岛素在胃肠道易被消化酶破坏,目前临床一直采用皮下注射的给药方式,但此方式存在诸多问题,长期的注射给药,可能导致注射部位产生炎症、硬结、过敏及耐药等并发症,给病人造成很大痛苦。经皮给药是一种无创给药方式,而且皮肤的水解酶活性很低,可以避免胰岛素的失活,所以经皮给药是胰岛素给药的理想途径之一。

皮肤是人体最大的器官,主要承担着保护身体、排汗、感觉冷热和压力等功能。皮肤覆盖全身,保护体内组织器官免受物理性、机械性、化学性和病原微生物性的侵袭,是人体的第一道屏障^[4]。人皮肤主要由表皮、真皮、皮下组织3部分组成,其中表皮层又分为角质层和活性表皮两部分,角质层是药物经皮转运的主要物理屏障^[5]。因此,如何使药物透过皮肤致密的角质层,进而进入体内循环发挥药效,成为药物经皮转运研究的关键。驻极体作为一种新型物理促渗手段,可以较好地解决这一难题。在课题组前期

的研究中,已证明驻极体可以促进小分子药物如美洛昔康等的经皮转运,也可以有效提高相对分子质量大于1000的环孢菌素A的累积透皮量^[6]。

糖尿病患者往往伴有多种并发症,糖尿病皮肤性病变是一种常见的糖尿病并发症,已对人类健康造成重大威胁^[7]。因此探究糖尿病大鼠皮肤显微结构变化,以及驻极体对糖尿病大鼠皮肤显微结构的影响,可以更好地将驻极体应用于胰岛素的经皮给药系统,更好地应用到糖尿病皮肤性病变的治疗中。本文通过研究正极性驻极体对糖尿病大鼠皮肤的影响,探寻药物经皮转运机制,并为糖尿病皮肤病的治疗探寻新的方法。

实验结果显示,正极性(+500 V、+1000 V、+1500 V)驻极体作用后,在大鼠皮肤两侧可以形成电场强度较强且较稳定的静电场,+1500 V驻极体作用糖尿病大鼠后,透过皮肤形成的等效表面电位达驻极体初始表面电位的61.78%。这个稳定的电场强度不仅可以改善糖尿病大鼠皮肤的显微结构^[8-12],而且可以作为药物经皮转运的推动力,促进药物的经皮转运。光学显微镜观察,驻极体作用后的大鼠皮肤组织的显微结构,结果显示大鼠皮肤角质层和表皮层均变薄,角质层细胞排列有序性降低、排列松散、细胞间隙变大,进一步阐明驻极体可以通过改变角质层结构促进药物的经皮转运,是一种良好的经皮转运促渗手段。

在+1500 V驻极体作用下,制作正常大鼠皮肤和糖尿病大鼠皮肤组织切片,光学显微镜下观察驻极体对糖尿病大鼠皮肤结构的影响,并进行显微测量,结果显示糖尿病皮肤的角质层厚度为(0.79 \pm 0.08) μm ,(表皮层+真皮层)厚度为(23.21 \pm 2.36) μm ,均较正常大鼠皮肤明显减小。糖尿病大鼠与正常大鼠皮肤显

微结构相比,糖尿病大鼠皮肤角质层变薄、真皮层细胞排列松散、细胞间隙较大。正极性驻极体作用4 h和8 h后,结果显示糖尿病大鼠的皮肤角质层逐渐增厚,真皮层细胞排列有序性增加。证明正极性驻极体可以有效地改善糖尿病大鼠皮肤的显微结构,不会使糖尿病大鼠皮肤进一步恶化。虽然正极性驻极体可以改善糖尿病大鼠皮肤的显微结构,但是糖尿病大鼠皮肤的角质层仍然比正常大鼠皮肤角质层薄,驻极体依然可以发挥良好的促渗作用。有近期结果显示,+1500 V驻极体促进胰岛素经糖尿病大鼠体外透皮36 h,体外累积透皮量为正常大鼠皮肤累积透皮量的1.23倍(文章另文发表)。

正极性驻极体可以透过皮肤表面产生等效表面电位,并在皮肤两侧形成稳定、较强的电势差,这一电势差可有效的改善糖尿病大鼠皮肤显微结构,且修复作用随驻极体作用时间的延长而增强。正极性驻极体可以作为经皮转运促渗手段有效提高药物的透皮吸收。因此,正极性驻极体在糖尿病皮肤性病变的治疗中具有广泛的应用前景。

【参考文献】

- [1] 陈向芳,林炜栋,陆树良,等. 胰岛素对糖尿病大鼠潜在皮肤病变防护作用的机理研究[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(45): 3176-3180.
Chen XF, Lin WD, Lu SL, et al. Amelioration of latent skin lesions in streptozotocin-induced diabetic rats by insulin[J]. National Medical Journal of China, 2005, 85(45): 3176-3180.
- [2] 董宝军,王常勇,郭希民,等. 海藻酸钠胰岛素纳米粒对糖尿病大鼠的降血糖作用[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(7): 590-592.
Dong BJ, Wang CY, Guo XM, et al. Hypoglycemic effects of sodium alginate-insulin nanoparticles on the blood glucose level of streptozotocin-induced diabetic wistar rats[J]. Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2005, 30(7): 590-592.
- [3] Unwin N, Gan D, Whiting D. The IDF diabetes atlas: Providing evidence, raising awareness and promoting action[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010, 87(1): 2-3.
- [4] Zhao ZT, Ma L. Chapter 45-skin and soft tissue infection: A clinical overview[J]. Mol Med Microbiol, 2015, 2(2): 825-835.
- [5] Smedenl JV, Janssensl M, Gooris GS, et al. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function[J]. BBA Mol Cell Biol Lipids, 2014, 1841(3): 295-313.
- [6] University of Jordan, The Leishmania Project, Jordan LaserCenter, et al. Skin disorders in patients with diabetes[J]. Clin Dermatol, 2008, 26(3): 235-242.
- [7] Alexandra B, Shaun T, Scott T. Skin blood flow abnormalities in diabetic dermopathy[J]. J Am Acad Dermatol, 2011, 65(3): 559-563.
- [8] 刘鸿越,江 键,崔黎丽,等. 驻极体及联用氮酮对环孢菌素A的体外透皮促渗作用[J]. 药学实践杂志, 2012, 30(6): 440-442.
Liu HY, Jiang J, Cui LL, et al. Penetration enhancement of electret and united Azone on cyclosporin A transdermal delivery *in vitro* [J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2012, 30(6): 440-442.
- [9] Chen HB, Zhu HD, Zheng JN, et al. Iontophoresis-driven penetration of nanovesicles through microneedle-induced skin microchannels for enhancing transdermal delivery of insulin[J]. J Control Res, 2009, 139(1): 63-72.
- [10] Lu WC, Chiang BH, Huang DW, et al. Skin permeation of D-limonene-based nanoemulsions as a transdermal carrier prepared by ultrasonic emulsification[J]. Ultrason Sonochem, 2013, 21(2): 826-832.
- [11] Makoto H, Mieke A, Jun K, et al. Transdermal iontophoretic delivery of insulin using a photoetched microdevice[J]. J Control Release, 1997, 43(2-3): 139-149.
- [12] Ling MH, Chen MC. Dissolving polymer micro needle patches for rapid and efficient transdermal delivery of insulin to diabetic rats [J]. Acta Biomater, 2013, 9(11): 8952-8961.