

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170810.018

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170810.1040.036.html> .

封闭负压引流联合生物敷料对糖尿病足溃疡创面植皮后血管新生、炎症反应的影响

卫 东,杜丽萍,张家建

(四川省人民医院·四川省医学科学院·电子科技大学附属医院,整形美容科,四川 成都 610072)

[摘要] **目的:**研究封闭负压引流联合生物敷料对糖尿病足溃疡创面植皮后血管新生、炎症反应的影响。**方法:**选择2014年5月~2017年2月在四川省人民医院就诊的糖尿病足患者,随机分为负压引流组和常规对照组,分别使用封闭负压引流联合生物敷料以及常规清创换药来处理创面。治疗前及治疗后1、3、5 d时,采集创面组织并检测血管新生分子、血管新生通路信号分子、炎症反应分子的表达量。**结果:**治疗后1、3、5 d时,负压吸引组创面组织中血管内皮生长因子(VEGF)、VEGFR、CD105、基质金属蛋白酶(MMP)9、PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B的蛋白表达量均显著高于常规对照组($P < 0.05$),COX-2、iNOS、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-6的mRNA表达量均显著低于常规对照组($P < 0.05$)。**结论:**封闭负压引流联合生物敷料对糖尿病足溃疡创面植皮后的血管新生具有促进作用,炎症反应具有抑制作用。

[关键词] 糖尿病足;封闭负压引流;生物敷料;血管新生;炎症反应

[中图分类号] R587.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2071-04

Effect of vacuum sealing drainage combined with biological dressings on the angiogenesis and inflammatory response after diabetic foot ulcer wound grafting

WEI Dong, DU Li-ping, ZHANG Jia-jian

(Plastic Surgery Department, Sichuan Provincial People's Hospital & Sichuan Academy of Medical Sciences & Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu City, Sichuan Province, 610072)

[Foundation Project]: This study is supported by People-Benefit Technology Research and Development Project of Chengdu (grant No. 2014-HM01-00274-SF).

[Author]: WEI Dong (1968-), Male, Jiangsu Suzhou, M.B., Associate Chief Physician, Tel: 028-87393699, 13981924256, E-mail: weidong201102@sina.com.

Received: 2017-07-19 Revised: 2017-07-22

JHMC, 2017; 23(15): 2071-2074

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective:** To study the effect of vacuum sealing drainage combined with biological dressings on the angiogenesis and inflammatory response after diabetic foot ulcer wound grafting. **Methods:** Patients with diabetic foot who were treated in Sichuan Provincial People's Hospital between May 2014 and February 2017 were selected and randomly divided into vacuum drainage group and normal control group who received vacuum sealing drainage combined with biological dressings as well as conventional debridement and dressing change to deal with the wound respectively. Before treatment as well as 1 d, 3 d and 5 d after treatment, the wound tissue was collected to determine the expression of angiogenesis molecules, angiogenesis signaling pathway molecules and inflammatory response molecules. **Results:** At time points of 1 d, 3 d and 5 d after treatment, VEGF, VEGFR, CD105, MMP9, PI3K, AKT, cyclinD1, p38MAPK and NF- κ B protein expression in wound tissue of vacuum drainage group were significantly higher than those of normal control group while COX-2, iNOS, TNF- α and IL-6 mRNA expression were significantly lower than those of normal control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Vacuum sealing drainage com-

[基金项目] 成都市惠民技术研发项目(2014-HM01-00274-SF)

[作者简介] 卫东(1968-),男,苏州人,副主任医师,本科,电话:028-87393699,13981924256,Email: weidong201102@sina.com.

[收稿日期] 2017-07-19 **[修回日期]** 2017-07-22 **网络出版时间:** 2017-08-10 10:40:14

combined with biological dressings promotes the angiogenesis and inhibits the inflammatory response after diabetic foot ulcer wound grafting.

[KEY WORDS] Diabetic foot; Vacuum sealing drainage; Biological dressings; Angiogenesis; Inflammatory response

2型糖尿病是临床常见的内分泌代谢性疾病,在病程进展过程中会出现血管和神经损伤,引起多种并发症的发生。糖尿病足是较为严重的糖尿病并发症,与下肢血管病变和神经病变均存在密切关系,临床处理较为棘手且截肢率较高^[1,2]。目前,临床上治疗糖尿病足的主要方式是清创、抗感染、局部换药以及改善循环,但治疗效果并不令人满意,溃疡创面的愈合情况不理想。封闭负压引流是近年来新发展起来的创面处理手段,联合使用生物敷料能够实现创面的广泛引流,并使创面处于清洁且湿润的局部环境中,有利于局部新生血管形成、炎症介质清除,进而促进创面的愈合^[3]。已有研究报道,使用封闭负压引流联合生物敷料能够促进骨折合并软组织损伤的创面愈合^[4]。本研究分析了封闭负压引流联合生物敷料对糖尿病足溃疡创面植皮后血管新生、炎症反应的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2014年5月~2017年2月期间在我院就诊的糖尿病足患者,所有患者符合糖尿病足的诊断标准,符合植皮手术治疗的指征且患者拒绝截肢治疗;排除Wagner分级IV~V级的糖尿病足患者、全身情况较差且无法耐受手术及多次换药处理的患者、下肢血管超声提示动脉闭塞的患者。共入组46例,采用随机数表法将入组患者分为两组,每组各23例。负压吸引组中男性14例、女性9例,年龄42~59岁;常规对照组中男性13例、女性10例,年龄41~60岁。两组患者一般资料的比较无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 创面处理方法

两组患者均在入院后接受胰岛素强化治疗,将空腹血糖控制在7 mmol/L以下,而后进行清创及植皮手术,缺损较小的部位采用临近软组织适度松解覆盖、缺损较大的部位采用刃厚皮片植皮。植皮后,负压吸引组采用封闭负压引流联合生物敷料进行创面处理,方法如下:根据创面外形裁剪聚乙烯醇水化海藻盐泡沫,将裁剪后的敷料放置在创面表面并将引流管插入泡沫内,而后用生物透性薄膜封闭创面并连接负压吸引,压力在10.0 kPa左右。对照患者进行常规创面消毒换药。

1.3 基因蛋白表达量的检测方法

治疗前及治疗后1、3、5 d时,换药时采集适量创面组织,PBS洗净创面表面附着的分泌物后加入RIPA裂解液,分离得到组织中的总蛋白后采用酶联免疫吸附试剂盒测定血管内皮生长因子(VEGF)、VEGFR、CD105、基质金属蛋白

酶(MMP)9、PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B的蛋白表达量。

1.4 基因 mRNA 表达量的检测方法

取治疗前及治疗后1、3、5 d时的创面组织,加入Takara公司的RNAiso裂解液,分离得到组织中的RNA,采用Takara公司的反转录试剂盒将RNA反转录合成为cDNA,最后采用Takara公司的荧光定量PCR试剂盒扩增COX-2、iNOS、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-6并计算mRNA表达量。

1.5 统计学处理

采用SPSS20.0录入数据并进行分析,两组间计量资料的分析采用 t 检验,检验结果按照 $P<0.05$ 判断差异有统计学意义。

2 结果

2.1 创面组织中血管新生分子的表达量

治疗前及治疗后不同时间点,负压吸引组和常规对照组患者创面组织中血管新生分子VEGF(ng/mL)、VEGFR(ng/mL)、CD105(pg/mL)、MMP9(pg/mL)表达量的分析如下:治疗前,两组患者创面组织中VEGF、VEGFR、CD105、MMP9的蛋白表达量无显著性差异($P>0.05$);治疗后1、3、5 d时,负压吸引组创面组织中VEGF、VEGFR、CD105、MMP9的蛋白表达量均显著高于常规对照组($P<0.05$)。见表1。

表1 两组创面组织中血管新生分子的表达量比较($n=23, \bar{x} \pm s$)

组别	治疗	VEGF	VEGFR	CD105	MMP9
负压吸引组	前	1.42±0.18	0.78±1.03	163.3±22.3	246.2±31.9
	1 d	2.58±0.35*#	1.89±0.25*#	256.6±31.9*#	396.7±46.2*#
	3 d	3.52±0.55*#	3.04±0.41*#	347.4±41.9*#	521.3±67.5*#
	5 d	5.28±0.73*#	4.58±0.57*#	583.5±72.4*#	662.5±78.9*#
常规对照组	前	1.38±0.17	0.81±0.09	159.6±19.4	249.1±32.6
	1 d	1.82±0.25#	1.32±0.15#	194.5±22.3#	315.3±45.9#
	3 d	2.69±0.41#	2.25±0.34#	252.3±32.5#	423.5±57.8#
	5 d	3.89±0.52#	3.21±0.46#	341.9±45.9#	503.6±72.4#

注:负压吸引组与常规对照组比较,* $P<0.05$;治疗前与治疗后比较,# $P<0.05$ 。

2.2 创面组织中血管新生通路信号分子的表达量

治疗前及治疗后不同时间点,负压吸引组和常规对照组患者创面组织中血管新生通路信号分子PI3K(ng/mL)、AKT(ng/mL)、cyclinD1(ng/mL)、p38MAPK(pg/mL)、NF- κ B(pg/mL)表达量的分析如下:治疗前,两组患者创面组织中PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B的蛋白表达量无显著性差异($P>0.05$);治疗后1、3、5 d,负压吸引组创面组织中PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B的蛋白表达量均显著高于常规对照组($P<0.05$)。见表2。

表 2 两组创面组织中血管新生通路信号分子的蛋白表达量比较 (n=23, $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗	PI3K	AKT	CyclinD1	p38MAPK	NF- κ B
负压吸引组	前	1.38±0.19	0.78±0.08	2.45±0.32	152.3±17.8	93.5±11.3
	1 d	2.88±0.42* #	1.73±0.23* #	4.03±0.57* #	268.6±31.5* #	179.3±20.3* #
	3 d	4.29±0.57* #	2.45±0.32* #	5.31±0.72* #	372.3±42.6* #	284.6±35.6* #
	5 d	5.93±0.73* #	3.28±0.52* #	6.49±0.84* #	495.6±68.4* #	375.3±41.2* #
常规对照组	前	1.41±0.16	0.80±0.10	2.41±0.35	150.1±16.8	95.1±10.2
	1 d	2.12±0.27#	1.26±0.16#	3.24±0.42#	203.1±28.5#	137.5±16.7#
	3 d	3.04±0.42#	1.63±0.22#	3.94±0.56#	264.4±32.6#	189.4±22.5#
	5 d	3.89±0.51#	1.95±0.25#	4.42±0.68#	304.7±41.9#	231.4±32.6#

注:负压吸引组与常规对照组比较,* P<0.05;治疗前与治疗后比较,# P<0.05。

2.3 创面组织中炎症反应分子的含量

治疗前及治疗后不同时间点,负压吸引组和常规对照组患者创面组织中炎症反应分子 COX-2、iNOS、TNF- α 、IL-6 表达量的分析如下:治疗前,两组患者创面组织中 COX-2、iNOS、TNF- α 、IL-6 的 mRNA 表达量无显著性差异 (P>0.05);治疗后 1、3、5 d 时,负压吸引组创面组织中 COX-2、iNOS、TNF- α 、IL-6 的 mRNA 表达量均显著低于常规对照组 (P<0.05)。见表 3。

表 3 两组创面组织中炎症反应分子的 mRNA 表达量比较 (n=23, $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗	COX-2	iNOS	TNF- α	IL-6
负压吸引组	前	1.02±0.15	1.05±0.15	0.98±0.14	1.01±0.13
	1 d	0.73±0.09* #	0.69±0.09* #	0.64±0.07* #	0.71±0.09* #
	3 d	0.56±0.08* #	0.52±0.07* #	0.49±0.06* #	0.44±0.08* #
	5 d	0.32±0.06* #	0.38±0.04* #	0.31±0.04* #	0.24±0.05* #
常规对照组	前	1.04±0.13	0.99±0.11	1.01±0.13	0.97±0.12
	1 d	0.87±0.11#	0.81±0.08#	0.84±0.10#	0.85±0.12#
	3 d	0.64±0.08#	0.72±0.08#	0.69±0.08#	0.62±0.08#
	5 d	0.50±0.07#	0.55±0.06#	0.46±0.07#	0.54±0.07#

注:负压吸引组与常规对照组比较,* P<0.05;治疗前与治疗后比较,# P<0.05。

3 讨论

糖尿病足是糖尿病患者较为严重的一类并发症,常见的累及部位为小腿下段、脚踝、足底及足趾,临床治疗难度大且截肢率较高^[5]。糖尿病足的发生与下肢神经病变和血管病变均存在密切关系,神经病变会造成对应部位感觉功能减退并增加外伤的发生机会,血管病变则会造成管腔狭窄、血供变差并造成破溃部位难以愈合。糖尿病足发生后,局部破溃创面极易发生感染,常规清创换药的效果较差^[6]。封闭负压引流是近年来新发展起来的复杂创面治疗手段,能够通过多个方面的共同作用来促进创面愈合^[7,8]:(1)生物敷料的覆盖能够维持局部创面处于微酸、湿润的环境,有利于肉芽组织的形成以及血管结构的新生;(2)封闭负压引流能够避免外界病原菌对创面的感染,同时使创面局部的渗出物得到及时引流,有利于减轻局部组织水肿的程度以及炎症反应的程度。封闭负压引流联合生物敷料已经在骨折合并软组织损伤创面的治疗中取得了积极价值^[9],

上述研究将该治疗手段用于糖尿病足植皮后的创面。

创面局部的血管新生是肉芽组织形成、创面愈合过程中重要的生物学行为。VEGF 是具有强大促进血管新生作用的细胞因子,通过与相应的膜受体 VEGFR 结合后能够诱导内皮细胞增殖并形成血管结构^[10,11];CD105 是在处于增殖状态的血管内皮细胞中高表达的标志分子,介导了内皮细胞与细胞间质之间的信号转导并参与血管新生的过程。MMP9 是一类能够水解基底膜及细胞外基质中胶原、层粘连蛋白等成分的蛋白酶,在血管新生过程中能够促进血管基底膜及内皮细胞外的基质,有利于内皮细胞在创面局部的迁移及增殖,进而促进了血管新生^[12]。为了明确糖尿病足植皮后创面内血管新生的情况,本文对治疗前后创面组织中上述血管新生分子表达量的变化进行了分析,结果显示:两组患者治疗后创面组织中 VEGF、VEGFR、CD105、MMP9 的表达量均显著升高,且负压吸引组创面组织中 VEGF、VEGFR、CD105、MMP9 的表达量显著高于常规对照组。这就说明在植皮手术后的创面内血管新生逐步增多、有利于创面的愈合;使用封闭负压引流联合生物敷料能够增加血管新生分子的表达、促进血管新生过程,进而为创面的愈合创造更为有利的条件。

血管新生的过程涉及复杂的信号转导,VEGF、MMP9 等对血管新生过程的调节也受到上游及下游信号通路的影响。PI3K/AKT 是具有促增殖作用的细胞内信号通路,VEGF 所介导的内皮细胞增殖效应依赖于该信号通路;当 VEGF 生成增多时,能够通过膜受体启动 PI3K 及 AKT 的活化,活化的 AKT 转位进入细胞核后能够启动 cyclinD1 的表达并加速细胞周期的进程、促进细胞的增殖^[13]。p38MAPK 是细胞内调节多种细胞因子表达的上游信号分子,外界刺激引起 p38MAPK 活化后能够启动下游 NF- κ B 转位进入细胞核的过程,入核的 NF-

κ B 能够识别并结合 VEGF 基因的启动子区域, 进而增加 VEGF 的表达^[14]。为了进一步明确封闭负压引流联合生物敷料对创面内血管新生过程的影响, 本文对创面中上述血管新生通路信号分子的表达量进行了分析, 结果显示: 两组患者治疗后创面组织中 PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B 的表达量均显著升高且负压吸引组创面组织中 PI3K、AKT、cyclinD1、p38MAPK、NF- κ B 的表达量显著高于常规对照组。这就说明在植皮手术后的创面内 PI3K/AKT、p38MAPK 通路所介导的血管新生过程呈激活状态, 使用封闭负压引流联合生物敷料能够促进 PI3K/AKT 和 p38MAPK 通路的激活、增加血管新生并有利于创面愈合。

糖尿病足创面的持续暴露会增加感染风险, 而封闭负压引流既能避免创面接触外界病原菌的机会、又能使创面分泌物及时引流, 能够大大降低感染风险。炎症反应激活是创面感染的重要病理特征, 由多种炎症介质的分泌来介导。COX-2 是催化前列腺素 E2 生成的限速酶, 催化产物具有激活炎症反应的促炎作用^[15]; iNOS 是介导 NO 生成的诱导酶, 在炎症反应过程中 iNOS 被大量诱导并增加 NO 的合成, 高水平的 NO 具有细胞毒性作用并且能够引起炎症反应^[16]; TNF- α 和 IL-6 是具有促炎作用的细胞因子, 能够促进炎症细胞在局部的浸润并介导炎症反应的级联激活^[17]。本文通过分析治疗前后创面中上述炎症反应分子表达量的变化可知: 两组患者治疗后创面组织中 COX-2、iNOS、TNF- α 、IL-6 的表达量均显著降低且负压吸引组创面组织中 COX-2、iNOS、TNF- α 、IL-6 的表达量显著低于常规对照组。这就说明在植皮手术后通过常规换药能够在一定程度上抑制创面内的炎症反应; 使用封闭负压引流联合生物敷料能够对创面内炎症反应的抑制作用较常规换药更为显著, 有利于减轻创面炎症、促进创面愈合。

封闭负压引流联合生物敷料用于糖尿病足溃疡植皮后的创面具有积极价值, 能够有效促进创面内的血管新生并抑制创面内的炎症反应。

参考文献

- Vella L, Formosa C. Characteristics predicting the outcome in individuals with diabetic foot ulcerations [J]. *J Am Podiatr Med Assoc*, 2017, 107(3): 180-191.
- Rasmussen A, Almdal T, Anker Nielsen A, et al. Decreasing incidence of foot ulcer among patients with type 1 and type 2 diabetes in the period 2001-2014 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 13(130): 221-228.

- Li Z, Wu W, Liu S, et al. Effect of vacuum sealing drainage in dermatoplasty of large area of cutaneous defects [J]. *Int J Surg*, 2017, 42:143-146.
- Sun D, Ju W, Wang T, et al. Vacuum sealing drainage therapy in the presence of an external fixation device: A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(46): e5444.
- Saleem S, Hayat N, Ahmed I, et al. Risk factors associated with poor outcome in diabetic foot ulcer patients [J]. *Turk J Med Sci*, 2017, 47(3): 826-831.
- Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(24):2367-2375.
- Niu XF, Yi JH, Zha GQ, et al. Vacuum sealing drainage as a pre-surgical adjunct in the treatment of complex (open) hand injuries: Report of 17 cases [J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2017, 103(3):461-464.
- Wang Z, Qu W, Liu T, et al. A two-stage protocol with vacuum sealing drainage for the treatment of type C pilon fractures [J]. *J Foot Ankle Surg*, 2016, 55(5):1117-1120.
- Wang J, Zhang H, Wang S. Application of vacuum sealing drainage in the treatment of internal fixation instrument exposure after early postoperative infection [J]. *Minerva Chir*, 2015, 70(1):17-22.
- Miaomiao W, Chunhua L, Xiaochen Z, et al. Autophagy is involved in regulating VEGF during high-glucose-induced podocyte injury [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(7):2202-2212.
- Zhou K, Ma Y, Brogan MS. Chronic and non-healing wounds: The story of vascular endothelial growth factor [J]. *Med Hypotheses*, 2015, 85(4):399-404.
- Lu W, Li J, Ren M, et al. Role of the mevalonate pathway in specific CpG site demethylation on AGEs-induced MMP9 expression and activation in keratinocytes [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 15(411): 121-129.
- Meta E, Brullo C, Sidibe A, et al. Design, synthesis and biological evaluation of new pyrazolyl-ureas and imidazopyrazolecarboxamides able to interfere with MAPK and PI3K upstream signaling involved in the angiogenesis [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 16(133):24-35.
- Park JH, Yoon J, Park B. Pomolic acid suppresses HIF1 α /VEGF-mediated angiogenesis by targeting p38-MAPK and mTOR signaling cascades [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(14): 1716-1726.
- Romana-Souza B, Santos JS, Bandeira LG, et al. Selective inhibition of COX-2 improves cutaneous wound healing of pressure ulcers in mice through reduction of iNOS expression [J]. *Life Sci*, 2016, 15(153): 82-92.
- Yildirim FI, Uyanik Ö, Özyo ğ urtu H, et al. Aggravating effect of atorvastatin on indomethacin-induced gastric injury: Focus on PGE2, TNF- α , neutrophils and iNOS [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2015, 121(Pt A): 53-62.
- Boink MA, Roffel S, Nazmi K, et al. The influence of chronic wound extracts on inflammatory cytokine and histatin stability [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152613.