

· 临床研究 ·

# 高压氧治疗对糖尿病足患者胶原合成和氮氧化合物的影响

杨 振, 乔师师<sup>△</sup>

(郑州大学第一附属医院普外科 450052)

**摘要:**目的 探讨高压氧治疗对糖尿病足患者胶原合成和氮氧化物(NO<sub>x</sub>)的影响。方法 纳入 20 例糖尿病足慢性溃疡患者,所有患者接受常规治疗,胰岛素控制血糖和抗生素控制感染。在此基础上,给予患者吸入 100% 的纯氧,压力为 2.4 个大气压,持续 105 min,1 周 5 次,连续治疗 6 周,共 30 次。检测治疗前后患者血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)、C 反应蛋白(CRP)及创面面积。此外检测血浆 I 型前胶原肽(P I NP)和 III 型前胶原肽(P III NP)及 NO<sub>x</sub>。结果 治疗后,所有患者血糖和 HbA1c 水平降低( $P < 0.001$ ),CRP 水平在治疗后下降( $P < 0.001$ )。接受高压氧治疗后 20 名患者血浆 P I NP 和 P III NP 水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),NO<sub>x</sub> 治疗前后的水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。创面愈合程度大于 50% 的患者治疗后 NO<sub>x</sub> 的水平明显升高( $P < 0.05$ ),创面愈合程度小于 50% 的患者治疗后 NO<sub>x</sub> 的水平明显降低( $P < 0.05$ )。结论 高压氧治疗可以增加糖尿病足(DF)患者血浆 P I NP 和 P III NP 的水平,适宜浓度的 NO<sub>x</sub> 可以促进创面的愈合。

**关键词:**糖尿病足;胶原;氮氧化物;高压氧

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.04.013

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)04-0347-02

## Effect of hyperbaric oxygen therapy on collagen synthesis and nitric oxide in diabetic foot patients

Yang Zhen, Qiao Shishi<sup>△</sup>

(Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of hyperbaric oxygen therapy on collagen synthesis and nitric oxide in diabetic foot patients. **Methods** Twenty patients with diabetic foot ulcerations were included. All patients were received routine therapy, blood glucose and infection were controlled by insulin and antibiotics. On that basis, all patients were given 100% oxygen at 2.4 absolute atmosphere for about 105 min, five times a week for a total of 30 sessions. Blood glucose, hemoglobin A1c, C-reactive protein and wound area were measured before and after hyperbaric oxygen treatment. Blood plasma procollagen type I and III N-terminal peptides and total nitrite/nitrate (NO<sub>x</sub>) levels were also determined. **Results** After hyperbaric oxygen therapy, blood glucose, hemoglobin A1c and C-reactive protein were decreased ( $P < 0.001$ ). Both P I NP and P III NP were significantly increased ( $P < 0.01$ ). However, the level of NO<sub>x</sub> were not increased ( $P > 0.05$ ). NO<sub>x</sub> level was increased in the patients with wounds surface healing more than 50% or higher ( $P < 0.05$ ), while NO<sub>x</sub> level was decreased in the patients with wounds surface healing less than 50% ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** After hyperbaric oxygen therapy, the plasma P I NP and P III NP levels are increased in diabetic foot patients, there is an optimum NO<sub>x</sub> levels for its contribution to the healing process.

**Key words:** diabetic foot; collagen; nitric oxide; hyperbaric oxygen

糖尿病患者由于并发不同程度末梢血管病变及神经病变,导致下肢感染、溃疡形成和(或)深部组织的破坏,形成糖尿病足(diabetic foot, DF)。DF 是糖尿病的常见慢性并发症,常规方法难以使创面愈合。高压氧治疗 DF 已经在世界范围广泛应用,其治疗价值逐渐得到认可<sup>[1]</sup>。但是高压氧治疗 DF 的治疗机制研究并不多,本研究探讨高压氧治疗对 DF 患者胶原合成和氮氧化物(NO<sub>x</sub>)的影响和高压氧的治疗机制。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 20 例 DF 慢性溃疡患者被纳入本研究,其中男 13 名,女 7 名,平均年龄为(39.3±12.8)岁。所有的患者符合 DF 的诊断,Wagner 分级为 II~IV 级<sup>[2]</sup>。研究通过当地伦理委员会的认可。入选患者的糖尿病病程为 3~12 年,平均(7.8±4.8)年。入院时空腹血糖(12.5±3.8)mmol/L,糖化血红蛋白(HbA1c)为(9.1±1.3)%。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方法** 所有患者接受常规治疗,胰岛素控制血糖,抗生素控制感染、创面清创换药,同时辅以高压氧治疗,采用医

用加压舱治疗,每天 1 次,1 周 5 次,连续治疗 6 周,共 30 次。每次的治疗给予 100% 纯氧,压力为  $2.43 \times 10^5$  Pa,加压 25 min,稳压后面罩吸入纯氧  $3 \times 25$  min,每个间隔休息 5 min。

### 1.2.2 指标检测

**1.2.2.1 一般指标** 治疗前后患者血糖、HbA1c、C 反应蛋白(CRP)及创面面积的测量。

**1.2.2.2 胶原合成及 NO<sub>x</sub> 检测** 治疗前抽取患者静脉血 10 mL,加入含乙二胺四乙酸(EDTA)的灭菌试管,600 g 离心 15 min,吸取血浆保存于 -80 °C 待测。I 型前胶原肽(P I NP)和 III 型前胶原肽(P III NP)的测定采用放射免疫法测定,试剂盒由芬兰 Orion 公司提供。批内和批间 CV 分别为 6.5%~9.8% 和 3.0%~9.8%,最低检出量为 0.3 μg/L。NO<sub>x</sub> 的测定采用总氮化合物测定试剂盒,由美国 R&D 公司提供。检测范围为 0.09 mmol/L~0.78 mmol/L,批内和批间 CV 分别小于 4.6% 和 2.5%。

**1.3 统计学处理** 所有计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件对所得数据进行统计学分析,治疗前后所有

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel:13503813511; E-mail:gegeyang88@126.com。

检测指标的比较采用自身配对  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

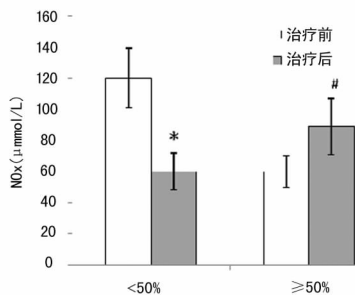
20 例患者治疗后血糖得到良好的控制,血糖和 HbA1C 水平降低( $P < 0.001$ ),感染也得到一定程度的控制,CRP 水平在治疗后下降( $P < 0.001$ ),见表 1。20 例患者接受高压氧治疗后,PI NP 和 PIII NP 水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 2,提示患者胶原合成增加。随着胶原的合成增加,患者创面的面积有不同程度的缩小( $P < 0.001$ ),见表 1。但是 NOx 治疗前后的水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。创面的愈合程度以愈合面积占治疗前创面面积的百分比表示,根据愈合程度将患者分成 2 组,比较 2 组治疗前后 NOx 的水平。结果显示 2 组间治疗前后水平的差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),创面愈合程度大于 50% 的患者治疗后 NOx 的水平明显升高( $P < 0.05$ ),创面愈合程度小于 50% 的患者治疗后 NOx 的水平明显降低( $P < 0.05$ ),见图 1。

表 1 治疗前后患者生化指标及创面面积的改变( $\bar{x} \pm s$ )

指标	治疗前	治疗后	$t$	$P$
血糖(mmol/L)	12.5±3.8	4.8±3.5	-7.3	<0.001
HbA1C(%)	9.1±1.3	5.7±1.8	-4.3	<0.001
CRP(g/L)	4.4±1.5	1.2±0.5	-4.5	<0.001
创面面积(cm <sup>2</sup> )	57.0±43.5	29.3±23.4	-5.6	<0.001

表 2 治疗前后胶原及 NOx 水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

指标	治疗前	治疗后	$t$	$P$
PI NP ( $\mu\text{g/L}$ )	32.5±28.7	44.8±37.4	4.8	<0.01
PIII NP ( $\mu\text{g/L}$ )	6.08±3.25	7.92±2.6	5.3	<0.01
NOx ( $\mu\text{mmol/L}$ )	78.5±46.5	84.6±39.3	1.5	>0.05



\*:  $P < 0.05$ , 愈合程度小于 50% 的患者治疗前后 NOx 水平的比较; #:  $P < 0.05$ , 愈合程度大于或等于 50% 的患者治疗前后 NOx 水平的比较。

图 1 不同创面愈合程度患者 NOx 水平治疗前后的比较

## 3 讨论

全身或局部的缺血和缺氧性疾病均是高压氧治疗的适应证。大量研究表明,高压氧治疗可以显著促进 DF 慢性溃疡创面的愈合,降低患者的截肢率,提高患者的生活质量。一项高压氧治疗 DF 的前瞻性研究表明,高压氧治疗组溃疡治愈率为 66%,而常规治疗组则无 1 例治愈,24% 的患者接受了末端跖趾关节截肢术<sup>[1]</sup>。Kaya 等<sup>[3]</sup>采用高压氧治疗 DF 患者,治愈率为 65%。国内学者也发现高压氧治疗对 DF 的有效率明显高于常规治疗组<sup>[4]</sup>。研究发现高压氧治疗 DF 的远期效果良好,一项对 38 例接受高压氧治疗的 DF 患者的 3 年随访研究证实 76% 的患者在 3 年后溃疡完全愈合<sup>[5]</sup>。

创面的愈合是一个复杂的过程,包括了炎症、血管新生和

胶原沉积等。研究证实,创面的胶原合成与成纤维细胞的数量、I 型胶原 mRNA 的存在、生长因子的生成增加及基质金属蛋白酶活性的降低有关<sup>[6]</sup>。反之,在慢性难愈合的创面,细胞外基质金属蛋白酶表达增加,成纤维细胞增生的速率降低,生长因子的表达也会降低<sup>[7]</sup>。血液的 PI NP 和 PIII NP 的测定可以作为胶原合成的标记物。这些多肽的浓度反映了 I 型和 III 型胶原的合成速率。研究证实在慢性创面的愈合过程成纤维细胞产生 I 型和 III 型胶原<sup>[8]</sup>。糖尿病是慢性创面难以愈合的主要病理因素。高糖的环境会阻碍足部溃疡的细胞增生和减少胶原的沉积,创面难以愈合,严重者甚至可能导致截肢。创面愈合的改善与创面周围组织的氧分压有直接的关系,众多的研究证实高压氧治疗促进 DF 患者足部溃疡的愈合和改善糖代谢<sup>[9-10]</sup>。本组资料显示,在接受 30 次连续高压氧治疗后,DF 患者血浆 PI NP 和 PIII NP 明显升高,提示了高压氧治疗增加了胶原的合成和促进愈合的速度。众所周知,分子氧是胶原合成的必要因素之一,在胶原成熟过程中的脯氨酸、赖氨酸羟基化起着重要作用。本研究检测的 PI NP 和 PIII NP 反映的是胶原合成的速率,不能直接反映胶原的成熟。研究证实高压氧治疗可以通过产生活性氧促进生长因子的分泌<sup>[11]</sup>。因此本研究结果提示了高压氧治疗促进患者的胶原合成而不是胶原成熟过程。

NOx 是一种内源性血管舒张物质,参与调节胶原合成和基质重塑等过程。Kuboki 等<sup>[12]</sup>报道,糖尿病患者由于缺乏胰岛素对 NOx 合成的刺激作用,循环 NOx 水平明显降低。临床和实验研究证实,NOx 是组织修复的重要调节因子,创面分泌液 NOx 水平明显升高<sup>[13]</sup>,但是短期的高压氧治疗后血浆 NOx 水平没有改变<sup>[14]</sup>。本研究,创面愈合程度小于 50% 的患者 NOx 基线水平较高,接受高压氧治疗后,NOx 水平降低。相反,创面愈合程度大于或等于 50% 的患者 NOx 基线水平较低,接受治疗后,NOx 水平得到一定程度的升高。新近的一项研究证实高压氧治疗可以通过增加 NOx 的生成促进创面的愈合<sup>[15]</sup>。研究结果提示适宜的 NOx 浓度才可以促进创面的愈合过程。动物实验研究证实 L-精氨酸作为一种常见的 NOx 合成前体,可以促进创面的愈合<sup>[16]</sup>。结合本研究结果,这提示了补充 L-精氨酸可能可以改善 DF 患者创面的愈合。

综上所述,本研究证实了高压氧治疗可以增加 DF 患者血浆 PI NP 和 PIII NP 的水平,此外一定浓度的 NOx 可以促进创面的愈合。本研究对高压氧的治疗机制进行了探讨,为 DF 的高压氧治疗提供了理论依据。L-精氨酸的补充治疗可能可以进一步改善 DF 的创面愈合,因此今后需要进一步研究在高压氧治疗的基础上补充 L-精氨酸对 DF 慢性溃疡的疗效。

## 参考文献:

- [1] Duzgun AP, Satir HZ, Ozozan O, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on healing of diabetic foot ulcers[J]. J Foot Ankle Surg, 2008, 47(6): 515-519.
- [2] Apelqvist J, Bakker K, Van Houtum WH, et al. International consensus and practical guidelines on the management and the prevention of the diabetic foot. International Working Group on the Diabetic Foot[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2000, 16 Suppl 1: S84-92.
- [3] Kaya A, Aydin F, Altay T, et al. Can major amputation rates be decreased in diabetic foot ulcers(下转第 351 页)

- matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 contributes to the development of early diabetic nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21(9):2406-2416.
- [2] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. *Nature*, 2001, 414(6865):813-820.
- [3] 李红, 郑芬萍, 阮昱, 等. 吡格列酮对糖尿病大鼠肾皮质 TGF- $\beta$  基因表达的抑制作用[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2003, 19(3):238-239.
- [4] Scherthaner G. Kidney disease in diabetology: lessons from 2009 [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(2):360-363.
- [5] Biesenbach G. Highest mortality during the last year before and the first year after start of dialysis treatment in type 2 diabetic patients with nephropathy[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2007, 3(2):123-126.
- [6] Abe H. Recent progress in understanding the molecular pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Rinsho Byori*, 2011, 59(2):179-186.
- [7] Chang CC, Chang CY, Wu YT, et al. Resveratrol retards progression of diabetic nephropathy through modulations of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and AMP-activated protein kinase [J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18(1):47.
- [8] Choudhury D, Tuncel M, Levi M. Diabetic nephropathy—a multifaceted target of new therapies [J]. *Discov Med*, 2010, 10(54):406-415.
- [9] Kashiwara N, Haruna Y, Kondeti VK, et al. Oxidative stress in diabetic nephropathy [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(34):4256-4269.
- [10] Ray G, Husain SA. Oxidants, antioxidants and carcinogenesis [J]. *Indian J Exp Biol*, 2002, 40(11):1213-1232.
- [11] Agavwal R. Smoking, oxidative stress and inflammation: impact on resting energy expenditure in diabetic nephropathy [J]. *BMC Nephrol*, 2005, 6(11):13-22.
- [12] Guo B, Koya D, Isono M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit TGF- $\beta_1$ -induced fibronectin expression in glomerular mesangial cells [J]. *Diabetes*, 2004, 53(1):200-208.
- [13] Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6):1446-1454.
- [14] de Pablos-Velasco P. Pioglitazone: beyond glucose control [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010, 8(8):1057-1067.
- [15] Biscetti F, Straface G, Pitocco D, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and angiogenesis [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2009, 19(11):751-759.

(收稿日期:2011-03-16 修回日期:2011-05-22)

(上接第 348 页)

- with hyperbaric oxygen therapy [J]. *Int Orthop*, 2009, 33(2):441-446.
- [4] 帕丽旦, 吉米兰木, 地丽达尔. 高压氧综合治疗糖尿病足的临床疗效观察 [J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2008, 15(4):248-249.
- [5] Kalani M, Jörneskog G, Naderi N, et al. Hyperbaric oxygen (HBO) therapy in treatment of diabetic foot ulcers [J]. *J Diabetes Complications*, 2002, 16(2):153-158.
- [6] Kang TS, Gorti GK, Quan SY, et al. Effect of hyperbaric oxygen on the growth factor profile of fibroblasts [J]. *Arch Facial Plast Surg*, 2004, 6(1):31-35.
- [7] Norgauer J, Hildenbrand T, Idzko M, et al. Elevated expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) and membrane-type matrix metalloproteinases in venous leg ulcers [J]. *Br J Dermatol*, 2002, 147(6):1180-1186.
- [8] Mutsaers SE, Bishop JE, McGrouther G, et al. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1997, 29(1):5-17.
- [9] Abidia A, Laden G, Kuan G, et al. The role of hyperbaric oxygen therapy in ischaemic diabetic lower extremity ulcers: a double-blind randomized-controlled trial [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2003, 25(6):513-518.
- [10] Kessler L, Bibault P, Ortéga F, et al. Hyperbaric oxygenation accelerates the healing rate of nonischemic chronic diabetic foot ulcers: a prospective randomized study [J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(8):2378-2382.
- [11] Shyu KG, Hung HF, Wang BW, et al. Hyperbaric oxygen induces placental growth factor expression in bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *Life Sci*, 2008, 83(1/2):65-73.
- [12] Kuboki K, Jiang ZY, Takahara N, et al. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo: a specific vascular action of insulin [J]. *Circulation*, 2010, 101(6):676-681.
- [13] Schwentker A, Billiar TR. Nitric oxide and wound repair [J]. *Surg Clin North Am*, 2003, 83(3):521-530.
- [14] Boykin JV Jr, Baylis C. Hyperbaric oxygen therapy mediates increased nitric oxide production associated with wound healing: a preliminary study [J]. *Adv Skin Wound Care*, 2007, 20(7):382-388.
- [15] Chen SJ, Yu CT, Cheng YL, et al. Effects of hyperbaric oxygen therapy on circulating interleukin-8, nitric oxide, and insulin-like growth factors in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Clin Biochem*, 2007, 40(1/2):30-36.
- [16] Shi HP, Most D, Efron DT, et al. Supplemental L-arginine enhances wound healing in diabetic rats [J]. *Wound Repair Regen*, 2003, 11(3):198-203.

(收稿日期:2011-05-09 修回日期:2011-07-22)