

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.22.042

高压氧辅助治疗创面愈合的研究进展

李 婧 综述,王怀明 审校

(山东省潍坊市第八十九医院骨科实验室 261021)

关键词:高压氧治疗;创面愈合;皮瓣移植;分子机制

中图分类号:R459.6

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)22-2941-03

正常创面愈合经历抗感染、消除炎症、结缔组织基质再生、血管生成和重新覆盖的有序过程,其中一些步骤依赖于足够的血液灌注和氧供给,任何一步出现问题,将形成难愈合创面,最终影响机体解剖学与功能完整性的恢复。低氧是导致难愈合创面形成的一个重要因素。成纤维细胞复制、胶原沉积、血管生成、抗感染和细胞内白细胞杀菌作用都是正常创面愈合时必需的反应,都需要氧的参与。从外周血到低氧创面中心的深度氧梯度支持正常创面愈合反应^[1]。

高压氧治疗(hyperbaric oxygen therapy, HBOT)以一个大气压以上的压力转运 100% 氧气,通过增加皮肤和周围组织的氧量促进创面愈合,已用于治疗各种慢性和急性创面^[2-5]。糖尿病足溃疡是主要研究领域^[6-8],也适用于感染性骨髓炎和创伤、不易愈合的皮肤移植物和皮瓣等^[9-11]。大量动物实验支持 HBOT 用于难治性皮瓣和移植植物辅助治疗,但临床研究证据不足。皮肤移植物和皮瓣在循环不佳患者中不易成活,低氧是主要原因。氧对创面愈合过程中能量产生十分重要,包括代谢、基质合成、细胞迁移和增殖^[12]。HBOT 可通过提高氧浓度和改善微循环提高皮瓣存活率。HBOT 还能促进血管生成,增强白细胞功能和抗微生物作用,为改善皮瓣和移植物的存活提供前提条件。临床已有应用 HBOT 治疗复杂创面愈合的报道^[10-13],但仍缺乏高质量随机对照实验。目前,HBOT 的作用机制仍未完全阐明,研究者们力图从细胞和分子水平探讨高压氧的治疗机制^[14-22]。本文就高压氧辅助治疗创面愈合的最新病例和作用机制研究综述如下。

1 临床病例研究

1.1 HBOT 乳房切除术皮肤皮瓣坏死^[10] 乳房切除术后由于皮瓣部分丢失会出现 15%~20% 的乳腺重建并发症,尽量减少皮肤丢失对治疗有益。本例报道了用 HBOT 处理 BRCA2 突变基因携带者的成功经验。治疗中没有直接选择清创术,而是用 HBOT 挽救一些已经缺血、同时预防了任何可能的感染。HBOT 对缺乏抵抗力的皮瓣主要有 3 种效应:(1)改善缺血后组织存活。通过可控的短期增加的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)抑制 B2 整合素,并破坏单核-巨噬细胞产生致炎性细胞因子,导致炎症反应降低,从而改善缺血后组织存活;HBOT 也可通过增加损伤部位血氧水平,重新分配血流至低氧区来改善缺血后组织存活。(2)HBOT 有助于恢复白细胞氧化杀伤机制所需的组织氧压力,从而增强内源抗微生物活性,尤其是厌氧菌感染。(3)氧在伤口愈合的不同阶段发挥作用。炎症阶段:氧控制成纤维细胞的迁移和增殖;增殖阶段:血管生成需要氧;重塑阶段:成纤维细胞产生胶原也是氧依赖性的。因此,选择应用 HBOT 的时间点十分重要。

1.2 负压和高压氧联合治疗膝关节成形术后坏疽性脓皮症 坏疽性脓皮症是一种罕见的自身免疫性失调导致皮肤溃疡和坏死疾病。Hill 等^[11]报道了 1 例干燥综合征患者在膝关节成

形术后发生化脓性坏疽性脓皮症的病例。在膝关节成形术后 6 d 创面破裂,行抗感染治疗,同时给予负压治疗(negative pressure therapy, NPT)5 d,创面破裂继续加重。经内分泌专家确诊坏疽性脓皮症后,给予免疫抑制治疗。术后 27 d 开始腓肠肌肌肉皮瓣覆盖重建。重建后 19 d 创面再次破裂,NPT 未见成功,进行 HBOT。HBOT 联合 NPT 治疗 30 d 后,创面愈合,肉芽组织生成,收缩良好。这是首次将 NPT 与 HBOT 联合药物控制疾病进展、感染和复发的治疗模式用于膝部坏疽性脓皮症治疗。本例中在创面破裂急性期使用 NPT 导致明显的皮肤浸软,连续 5 d 治疗后及组织重建 12 d 后,创面仍未实现愈合。HBOT 通过增加组织氧,减少水肿,增加成纤维细胞活性,新生血管化和抑菌作用促进愈合。本例的经验在于对免疫抑制患者长期 HBOT 联合 NPT 能缩小创面面积,增加肉芽形成,促进上皮再生,明显减轻疼痛。

1.3 高压氧辅助治疗对远端肢体手术重建的短期并发症的影响 Roje 等^[13]回顾性分析 1991~1995 年一所医院中 Gustilo III 型肢体战伤进行重建手术的 388 例男性患者资料,以应用 HBOT 作为风险因素分析了住院期间主要伤口并发症(深部感染、骨髓炎、移植皮肤溶解和皮瓣坏死)的发生率和伤口形成肉芽组织的时间。结果表明 HBOT 减少 Gustilo III 型伤口患者中伤口并发症的发生,缩短肉芽形成时间,这是早期手术重建的前提。在预防深部软组织感染中 HBOT 对未得到及时救治的患者效果更佳。早期使用 HBOT,有利于移植物和皮瓣存活。皮瓣坏死尽管存在个体化问题,但组织缺氧是重要因素。HBOT 不仅改善组织氧生成,而且通过增强成纤维细胞胶原合成,新生血管形成和动静脉分路的闭合有利于皮瓣存活,也有利于微循环。未及时有效处置可能导致皮瓣坏死,随后侧支循环栓塞,易形成深部组织感染,可能导致部分的肌肉坏死。手术后立即应用 HBOT 并持续一定时间能增加缺血性随机皮瓣中存活组织的数量。

2 作用机制研究

2.1 高压氧与成纤维细胞 填补组织缺陷并支持新生血管的胶原沉积过程需要在适宜的组织氧水平下进行。氧加速糖胺聚糖的合成,充足的氧是成纤维细胞胶原释放过程中羟基化的必备条件。高氧条件能增强胶原和糖胺聚糖的合成。周期性暴露于高压氧可以直接作用于成纤维细胞胶原合成和血管生长。Kang 等^[17]研究了高压氧对体外无血清状况下成纤维细胞的直接效应。分别以 1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 atm 的压力每天 90 min 高压氧处理无血清介质中人皮肤成纤维细胞,并测定不同时间点细胞增殖和生长因子分泌情况。结果表明当以一定压力高压氧处理后能刺激成纤维细胞的增殖和调节部分生长因子的产生。揭示高压氧可以通过调节成纤维细胞增殖和生长因子产生发挥作用。创面愈合中的氧不只是一种养料,成纤维细胞能通过特定细胞信号通路对高氧状态产生应答。

2.2 高压氧与细胞凋亡 广泛应用皮瓣弥补手术缺陷是进行重建的主要方法,但缺血组织坏死仍是皮瓣手术的主要并发症。高压氧能增加血浆中可溶解氧并转运至低氧组织,通过组织间质液促进氧扩散进入间隙空间,减少细胞凋亡,这是高压氧产生正向结果的决定因素。da Rocha 等^[18]用免疫组织化学法测定了高压氧处理对大鼠随机皮瓣中 Caspase-3 和 VEGF 表达的作用。结果表明高压氧对缺血皮瓣的保护作用与降低凋亡表达相关。Zhang 等^[19]通过制备缺血皮瓣,研究高压氧改善缺血创面愈合中凋亡相关蛋白表达情况。发现高压氧能在处理第 7 天显著降低缺血导致的低氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达,并减少肉芽组织中中性粒细胞数量和炎性标志物 COX-2 表达。与对照组相比,高压氧处理能降低愈合创面中 p53 和 Bnip3 表达,增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,同时降低裂解的 Caspase-3。这些结果表明高压氧通过下调 HIF-1 α 及其调节的靶基因表达,减少细胞凋亡和炎症反应来改善创面愈合。Almzaiel 等^[23]以分化的 HL-60 细胞为模型研究了 HBOT 对抗微生物功能和凋亡的影响。一次 90 min HBO 暴露导致中性粒细胞样 HL-60 细胞呼吸爆发活性增加,吞噬金黄色葡萄球菌作用增强。HBO 预处理增加 Caspase 3/7 活性,产生凋亡相关形态学改变。中性粒细胞凋亡对清除难愈合创面的炎症十分重要。高压氧通过增强抗微生物活性促进创面愈合的重要作用可以通过增强中性粒细胞凋亡实现。单独高氧和压力处理似乎有利于 HBO 诱导的抗微生物活性和凋亡,这是解释 HBO 有效治疗难愈合创面的另一种凋亡机制。

2.3 高压氧与血管生成 血管生成是一个复杂过程,尽管一些非血管内皮特异性生长因子和转录因子参与血管形成,但血管内皮特异性生长因子是主要调节者,包括 VEGF 和血管生成素(angiotensins)。血管生成能恢复氧和养料供给,是创面愈合的重要过程。血管生成素是与 VEGF 共同作用促进血管形成的因子,其中血管生成素-1(Ang1)与 Tie2 相互作用是维持成人血管的完整性的重要因素。血管生成素-2(Ang2)是 Ang1/Tie2 相互作用的天然拮抗剂。Lin 等^[20]分别从蛋白和基因水平研究了高压氧处理后人脐静脉内皮细胞中 Ang1、Ang2、Tie2 和 VEGF 表达情况。结果显示高压氧能增加 Ang2 细胞表达水平,可能 Ang2 与 Ang1 竞争数量有限的 Tie2 受体,干扰 Ang1 与 Tie2 的结合。特异性诱导内皮 Ang2 表达可能是高压氧诱导血管生成的一个重要机制。动物模型研究也证明了高压氧促进创面血管生成和上皮形成的体内效应,能有效逆转巨噬细胞减少带来的对伤口上皮形成和新血管生成产生的负面效应^[21]。创面周围的氧环境对愈合过程中血管生成也有不同影响。有报道认为系统和局部氧供促进创面愈合;也有报道认为组织低氧刺激创面愈合中的血管生成,低氧能增加血管生成相关细胞因子。Sano 等^[22]通过建立一个不同氧渗透膜闭合创面动物模型,评估不同氧环境对创面愈合的影响。结果表明正常氧压组相对于低氧压组创面大小降低百分数显著增高,肉芽组织显著增厚;相反,低氧压组血管密度显著增加。表明充足的氧能保证上皮和肉芽形成,而低氧增强新生血管形成可能是组织对低氧状况的一种代偿反应。

2.4 高压氧与核转录因子 κ B 不同刺激下转录因子的调节是免疫应答的一个重要步骤。重要的信号分子核转录因子 κ B (nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B) 广泛表达,调控多种可诱导基因和蛋白的表达。NF- κ B 从细胞质转位至细胞核,激活一系列应答反应途径,在炎症反应过程中发挥重要作用。NF- κ B 诱导参与氧化应激基因的表达是其作用的常见特点。高压状态下吸入 100% 氧能增加游离氧自由基浓度,导致氧化爆发而改变氧化还原状态。氧化还原信号通过减少抗

氧化剂容量诱导 NF- κ B 活化。Madden 等^[24]通过测定接受 HBO 治疗后健康志愿者外周血单核细胞中 NF- κ B 的表达情况,发现 HBO 治疗后 NF- κ B 表达水平立即显著增加,从而证明 HBO 诱导人外周血单核细胞中 NF- κ B 的活化可能是 HBOT 治疗机制中一个重要步骤。NF- κ B 调节可以作为细胞水平的一种氧感应器。

2.5 高压氧与一氧化氮(NO)信号通路 缺血再灌注损伤是再植、游离组织移植、心肌梗死、脑缺血中风等干扰血流的疾病发生后的严重后果。恢复缺血组织的血流又启动炎症反应增加损伤程度。因此,预防、诊断和治疗缺血再灌注损伤对改善受损组织的存活和功能十分重要。高压氧对于组织存活有正向作用,但缺乏对其详细作用机制的认知阻碍了 HBOT 在缺血再灌注损伤中的广泛认可。缺血再灌注中骨骼肌形态分析显示与非缺血对照相比,黏附于毛细血管后微静脉内皮的中性粒细胞数量增加。中性粒细胞黏附于微静脉内皮依赖于 CD18 蛋白复合物。HBOT 能减少缺血骨骼肌的水肿和坏死。微循环研究显示缺血后的 HBOT 将减少白细胞黏附于微静脉内皮。缺血再灌注中重要的细胞信号转导分子 NO 能减少中性粒细胞与内皮的黏附,当将 NO 前体注入缺血的股直肌和股薄肌后能改善存活率。而当注入一氧化氮合酶抑制剂时,则不改变缺血导致的死亡率。Jones 等^[25]通过夹紧股薄肌动脉和静脉 4 h 诱导全面缺血损伤模型,比较 HBOT 治疗缺血损伤中各种一氧化氮合酶抑制剂和 NO 清除剂对中性粒细胞 CD18 极化的影响。证明了高压氧减少缺血再灌注诱导的中性粒细胞 CD18 极化,中性粒细胞与细胞间黏附分子(ICAM)的黏附由一氧化氮合酶参与的一氧化氮机制介导。

综上所述,氧参与了创面愈合的每个阶段,能成为协调创面愈合中众多生化反应事件的中心。氧作为启动生化反应和细胞功能的能量来源,是胶原合成和交联必需的养料,参与某些信号分子的作用,产生活性氧底物,对抗感染,作为氧化还原调节的重要组成成分控制编码愈合级联反应中重要蛋白基因的表达等。HBOT 通过增加血浆和组织中细胞氧浓度,以其特有的作用方式,对不同类型创面的治疗具有广阔前景。当然,未来仍需要更多高质量的基础和临床研究支持高压氧的辅助治疗应用,并且 HBOT 也不是万能药,也存在近视、耳气压伤、气胸、氧中毒等并发症的可能。目前,尚不能准确预测哪些患者能从 HBOT 中获益。每个人具有编码抗氧化分子的内源基因,保护机体免受氧化应激损伤,但这些基因的表达可能存在个体差异,造成不同患者对氧负荷耐受不同。而在常规实践中,几乎所有患者接受相同剂量 HBOT,因此,需要进一步探讨不同创面下 HBOT 的作用机制,为个体化治疗提供依据。

参考文献:

- [1] Warriner RA, Hopf HW. The effect of hyperbaric oxygen in the enhancement of healing in selected problem wounds [J]. Undersea Hyperb Med, 2012, 39(5): 923-935.
- [2] Bhutani S, Vishwanath G. Hyperbaric oxygen and wound healing [J]. Indian J Plast Surg, 2012, 45(2): 316-324.
- [3] Eskes AM, Ubbink DT, Lubbers MJ, et al. Hyperbaric oxygen therapy: solution for difficult to heal acute wounds? Systematic review [J]. World J Surg, 2011, 35(3): 535-542.
- [4] Kuffler DP. Hyperbaric oxygen therapy: an overview [J]. J Wound Care, 2010, 19(2): 77-79.
- [5] Hunter S, Langemo DK, Anderson J, et al. Hyperbaric oxygen therapy for chronic wounds [J]. Adv Skin Wound Care, 2010, 23(3): 116-119.

- [6] Brimson CH, Nigam Y. The role of oxygen-associated therapies for the healing of chronic wounds, particularly in patients with diabetes[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012, 27(4):411-418.
- [7] Londahl M, Katzman P, Hammarlund C, et al. Relationship between ulcer healing after hyperbaric oxygen therapy and transcutaneous oximetry, toe blood pressure and ankle-brachial index in patients with diabetes and chronic foot ulcers[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(1):65-68.
- [8] Londahl M. Hyperbaric oxygen therapy as treatment for diabetic foot ulcers[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2012, 28(Suppl 1):78-84.
- [9] Ahmed R, Severson MA, Traynelis VC. Role of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of bacterial spinal osteomyelitis[J]. *J Neurosurg Spine*, 2009, 10(1):16-20.
- [10] Mermans JF, Tuinder S, von Meyenfeldt MF, et al. Hyperbaric oxygen treatment for skin flap necrosis after a mastectomy: a case study[J]. *Undersea Hyperb Med*, 2012, 39(3):719-723.
- [11] Hill DS, O'Neill JK, Toms A, et al. Pyoderma gangrenosum: a report of a rare complication after knee arthroplasty requiring muscle flap cover supplement by negative pressure therapy and hyperbaric oxygen[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2011, 64(11):1528-1532.
- [12] Eisenbud DE. Oxygen in wound healing nutrient, antibiotic, signaling molecule, and therapeutic agent[J]. *Clin Plastic Surg*, 2012, 39(3):293-310.
- [13] Roje Z, Roje Z, Eterovic D, et al. Influence of adjuvant hyperbaric oxygen therapy on short-term complication during surgical reconstruction of upper and lower extremity war injuries: retrospective cohort study[J]. *Coat Med J*, 2008, 49(2):224-232.
- [14] Gordillo GM, Roy S, Khanna S, et al. Topical oxygen therapy induces VEGF expression and improves closure of clinically presented chronic wounds[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(8):957-964.
- [15] Alleva R, Tomasetti M, Sartini D, et al. alpha-Lipoic acid modulates extracellular matrix and angiogenesis gene expression in non-healing wounds treated with hyperbaric oxygen therapy[J]. *Mol Med*, 2008, 14(3-4):175-183.
- [16] Yuan J, Handy RD, Moody AJ, et al. Response of blood vessels in vitro to hyperbaric oxygen (HBO); modulation of VEGF and NO(x) release by external lactate or arginine[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(7):828-834.
- [17] 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.
- [18] da Rocha FP, Fagundes DJ, Rivoire HC, et al. Immunohistochemical expression of apoptosis and VEGF expression on random skin flaps in rats treated with hyperbaric oxygen and N-acetylcystein [J]. *Undersea Hyperb Med*, 2011, 38(3):167-174.
- [19] Zhang Q, Chang Q, Cox RA, et al. Hyperbaric oxygen attenuated apoptosis and decreases inflammation in an ischemic wound model[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(8):2102-2112.
- [20] Lin S, Shyu KG, Lee CC, et al. Hyperbaric oxygen selectively induces angiopoietin-2 in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biochem and Biophys Res Commun*, 2002, 296(3):710-715.
- [21] Sander AL, Henrich D, Muth CM, et al. In vivo effect of hyperbaric oxygen on wound angiogenesis and epithelialization[J]. *Wound Repair Regen*, 2009, 17(2):179-184.
- [22] Sano H, Ichioka S, Sekiya N. Influence of oxygen on wound healing dynamics: assessment in a novel wound mouse model under a variable oxygen environment[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e50212.
- [23] Almzaie AJ, Billington R, Smerdon G, et al. Effects of hyperbaric oxygen treatment on antimicrobial function and apoptosis of differentiated HL-60 (neutrophil-like) cells[J]. *Life Sci*, 2013, 93(2-3):125-131.
- [24] Madden LA, Vince RV, Laden G. The effect of acute hyperoxia in vivo on NF kappa B expression in human PBMC[J]. *Cell Biochem Funct*, 2011, 29(1):71-73.
- [25] Jones SR, Carpin KM, Woodward SM, et al. Hyperbaric oxygen inhibits ischemia-reperfusion induced neutrophil CD18 polarization by a nitric oxide mechanism[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2010, 126(2):403-411.

(收稿日期:2014-02-15 修回日期:2014-05-25)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.22.043

前列腺素 E₂ 在牙周病发病机制和防治中的研究进展*

刘莉综述,张纲[△]审校

(第三军医大学新桥医院口腔科,重庆 400037)

关键词:牙周病;细胞因子;前列腺素 E₂

中图分类号:R781.4

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)22-2943-03

牙周病是造成人群失牙的主要原因之一,长期牙周病会造成牙龈出血、牙齿松动、口臭等,而且牙周病还与糖尿病、心血管病等多种疾病有联系。目前研究发现,牙周病的发生、发展

和细胞因子信号网络相关^[1]。前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 是一种几乎在人体各组织的细胞内均可合成产生的重要的骨代谢调节因子,通过不同受体介导的信号传递途径,在