

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.14.003

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240709.1109.008\(2024-07-10\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240709.1109.008(2024-07-10))

体外冲击波疗法对糖尿病大鼠下肢血管病变的影响*

张柏巍¹, 余倩², 廖洪勇³, 张一弛⁴, 邹晋峰⁵, 贺纯静^{5△}

(1. 贵州医科大学麻醉学院, 贵阳 550002; 2. 贵州省人民医院神经内科, 贵阳 550000;
3. 贵州省人民医院超声科, 贵阳 550000; 4. 贵州省人民医院烧伤整形科, 贵阳 550000;
5. 贵州省人民医院疼痛科, 贵阳 550000)

[摘要] **目的** 观察体外冲击波疗法(ESWT)调节内皮细胞磷酸酶张力蛋白同源物(PTEN)的表达对糖尿病大鼠下肢血管病变的影响及其可能的机制。**方法** 将 24 只 2 月龄健康雄性 SD 大鼠随机分为 3 组: 对照组(A 组)、糖尿病血管病变组(B 组)、糖尿病血管病变+ESWT 治疗组(C 组)。B 组和 C 组采用高脂高糖喂养+腹腔注射链脲佐菌素 60 mg/kg 建立糖尿病血管病变大鼠模型, C 组在建模成功后 1 周(T₁)、2 周(T₂)、3 周(T₃)、4 周(T₄)接受 ESWT 治疗。T₄ 时通过超声测量大鼠股动脉血管病变区血流速度和血管内径。ESWT 治疗结束后即刻处死大鼠取下肢股动脉及腓肠肌, 在电镜下观察各组股动脉结构。Western blot 检测股动脉 PTEN、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)和蛋白激酶 B(Akt)的表达水平, 实时荧光定量逆转录-PCR(qRT-PCR)检测 PTEN mRNA 的表达水平; 免疫荧光检测腓肠肌 CD31 表达水平。**结果** B、C 组 T₄ 时股动脉收缩期峰值流速及舒张末期血流速度均明显低于 A 组($P < 0.05$), 但 C 组高于 B 组($P < 0.05$)。3 组大鼠股动脉内径差异无统计学意义($P > 0.05$)。B、C 组 PTEN 表达水平明显低于 A 组($P < 0.05$), 但 C 组高于 B 组($P < 0.05$)。B 组的 PI3K、Akt 表达水平均明显高于 A 组($P < 0.05$), C 组低于 B 组($P < 0.05$)。B、C 组 PTEN mRNA 表达水平明显低于 A 组($P < 0.05$), 但 C 组高于 B 组($P < 0.05$)。电镜下观察到, ESWT 治疗后, C 组血管内皮细胞损伤较 B 组明显; B、C 组 CD31 表达水平明显低于 A 组($P < 0.05$), 但 C 组高于 B 组($P < 0.05$)。**结论** ESWT 可通过上调糖尿病大鼠下肢动脉 PTEN, 下调 PI3K 和 Akt, 改善血管功能, 提高糖尿病大鼠股动脉收缩期峰值流速, 改善腓肠肌微血管密度。

[关键词] 体外冲击波疗法; 糖尿病; 磷酸酶张力蛋白同源物; 血管内皮细胞

[中图法分类号] R493 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)14-2092-07

Effects of extracorporeal shock wave therapy on lower extremity vascular lesions in diabetic rats*

ZHANG Bowei¹, YU Qian², LIAO Hongyong³, ZHANG Yichi⁴, ZOU Jinfeng⁵, HE Chunjing^{5△}

(1. School of Anesthesiology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550002, China;
2. Department of Neurology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550000, China;
3. Department of Ultrasound, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550000, China;
4. Department of Burn and Plastic Surgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550000, China;
5. Department of Pain, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of extracorporeal shockwave therapy (ESWT) in regulating endothelial cell phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) expression on lower extremity vascular lesion and its possible mechanism. **Methods** Twenty-four 2-month-old healthy male SD rats were randomly divided into the three groups: control group (group A), diabetes angiopathy group (group B), diabetes angiopathy+ESWT group (group C). The group B and C were fed with high fat and high sugar and intraperitoneally injected with streptozotocin 60 mg/kg to establish the rat model of diabetes vascular lesion.

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82260453); 贵州省科技厅项目(黔科协科委科[2022]271, 黔科协科委科[2021]403); 贵州省卫生健康委员会科学技术基金项目(gzkwkj2023-167)。△ 通信作者, E-mail: hcj777330@163.com。

The group C received ESWT at 1 week (T_1), 2 weeks (T_2), 3 weeks (T_3) and 4 weeks (T_4) after modeling, and the blood stream velocity of rat femoral artery vascular lesion area and vascular internal diameter were measured at T_4 by ultrasound. At the end of ESWT, the rats were immediately killed for taking their femoral arteries and gastrocnemius. The structures of the femoral arteries in each group were observed under electron microscopy. Western blot was used to detect the expression levels of PTEN, PI3K and Akt proteins, while qRT-PCR was used to detect the expression levels of PTEN mRNA. Immunofluorescence was used to detect the expression level of CD31 in gastrocnemius muscle. **Results** The peak systolic flow velocity and end-diastolic flow velocity of femoral artery at T_4 in group B and C were significantly lower than those in group A ($P < 0.05$), but group C was higher than group B ($P < 0.05$). The internal diameter of femoral artery had no statistical difference among 3 groups ($P > 0.05$). The PTEN expression level in group B and group C was significantly lower than that in group A ($P < 0.05$), while group C was higher than group B ($P < 0.05$). The expression levels of PI3K and Akt in group B were higher than those in group A ($P < 0.05$), and group C was lower than group B ($P < 0.05$). The PTEN mRNA expression level in group B and group C was significantly lower than that in group A ($P < 0.05$), but group C was higher than group B ($P < 0.05$). Under electron microscopy, it was observed that after ESWT, the endothelial cell damage in group C was obvious when compared with group B. The CD31 expression level in group B and group C was significantly lower than that in group A ($P < 0.05$), but group C was higher than group B ($P < 0.05$). **Conclusion** ESWT could improve the vascular function, increase the peak velocity during systolic period of femoral artery in diabetes rats and improve the microvessel density of gastrocnemius muscle by up-regulating PTEN in lower extremity artery and down-regulating PI3K and Akt in diabetes rats.

[Key words] extracorporeal shockwave therapy; diabetes; phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten; vascular endothelial cells

血管内皮是高血糖损伤的主要靶点,高血糖可以促进动脉粥样硬化,通过抑制血管内皮细胞的增殖活性和诱导细胞凋亡,导致血管内皮功能障碍、血管炎症并抑制抗血栓系统^[1]。据报道,约 15% 的糖尿病患者其血管病变最终会发展为足部溃疡甚至坏疽,其中约 20% 的患者最终会面临截肢^[2]。现有的治疗方式还是以药物改善患者血糖及抗凝为主,寻找一种无创、安全、有效的治疗方法是当前研究的热点。作者前期研究发现,体外冲击波疗法(extracorporeal shockwave therapy, ESWT)可上调糖尿病大鼠下肢动脉内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS),改善高血糖引起的血管内皮损伤,但具体机制尚不清楚^[3-5]。同时,有研究表明,磷酸酶张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)的激活及 PTEN-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)相关的细胞凋亡在糖尿病血管病变中具有重要作用^[6]。本研究拟观察 ESWT 通过调节内皮细胞 PTEN 的表达对糖尿病大鼠下肢鼠血管病变的影响,探讨 ESWT 治疗后血管功能和结构的变化及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料、试剂

豚佐菌素、Triton X-100、戊巴比妥钠、环氧包埋介质试剂盒购自美国 Sigma 公司;维生素 D₃ 购自美国 M 公司;尼古丁、花生油购自美国 GlpBio 公司;CD31 抗体、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、TRIZOL 试剂、Maxima SYBR Green/ROX qPCR MasterMix(2×)预混试剂购自美国 Thermo Fisher 公司;PTEN 抗体购自美国 RD Biosciences 公司;磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抗体购自美国 Novus Biologicals 公司;Akt 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;4%多聚甲醛、磷酸盐缓冲液(PBS)、RIPA 裂解液、4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)、抗荧光淬灭封片剂、苯甲基磺酰氟(PMSF)、电化学发光(ECL)溶液、0.45 μm 聚偏氟乙烯(PVDF)膜、RNA 提取液购自武汉赛维尔科技有限公司。

1.1.2 实验设备

Philips EPIQ 5 多普勒超声仪购自荷兰 Philips 公司;EMS Swiss DolorClast Smart 冲击波治疗仪购自瑞典 EMS 公司;脱水机购自意大利 Dipath 公司;包埋机、冻台购自武汉俊杰电子有限公司;病理切片机购自德国 Leica 公司;组织摊片机、烤箱购自浙江省金华市科迪仪器设备有限公司;正置荧光显微镜购自日本 Nikon 公司;扫描仪购自匈牙利 3DHISTECH 公司;PCR 仪购自北京东胜创新生物科技有限公司;扫描

电子显微镜购自日本 Hitachi 公司。

1.1.3 实验动物

无特定病原体(SPF)级健康雄性 SD 大鼠 24 只, 2 月龄, 体重 200~250 g, 购自成都达硕实验动物有限公司[许可证编号: SCXK(川)2020-030]。适应性喂养 1 周后, 采用随机数字表法将大鼠分为对照组(A 组, $n=8$)、糖尿病血管病变组(B 组, $n=8$)和糖尿病血管病变+ESWT 治疗组(C 组, $n=8$)。本研究中的所有程序均符合美国国家卫生研究院实验室动物护理标准并经贵州省人民医院动物护理与使用机构委员会批准[审批号: 伦审(动物)2023-015]。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病血管病变模型

B、C 组大鼠喂食高脂高糖饮食 1 个月, 然后腹腔注射链脲佐菌素 60 mg/kg, A 组大鼠同时时间点腹腔注射相同剂量的生理盐水。测定 3 组大鼠在注射前(禁食 12 h 后)和注射后 7 d(禁食 12 h 后)尾静脉血的血糖浓度。注射后 7 d 尾静脉血糖浓度 >16.7 mmol/L, 即视为糖尿病大鼠。糖尿病大鼠继续肌肉注射维生素 D₃, 3×10^5 IU/kg。将尼古丁 25 mg/kg 溶解于花生油中, 反复灌胃。12 h 后, 再次灌胃尼古丁, 加速血管病变形, 然后继续高脂高糖喂食 1 个月。

1.2.2 血糖监测

于造模前(T_0)及建模成功后 1 周(T_1)、2 周(T_2)、3 周(T_3)、4 周(T_4)聚维酮碘消毒后, 采血针采尾静脉血检测大鼠尾静脉随机血糖并记录。

1.2.3 ESWT 处理

C 组下肢 ESWT 治疗分别于 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 进行。ESWT 治疗参数为频率 10~15 Hz, 压强 0.10~0.15 MPa, 能流密度 0.18~0.20 mJ/mm²[3]。治疗前大鼠下肢血管走行区域备皮, 并用聚维酮碘进行常规消毒。以沿下肢血管的走行作为治疗区域, 每次治疗给予冲击剂量 2 000 次。最后一次治疗后, 取大鼠左下肢股动脉进行后续检测。所有大鼠在治疗过程中存活。

1.2.4 超声测量大鼠股动脉血管病变区血流速度和股动脉内径

采用 Phillip EPIQ 5 MHz 超声诊断仪测量 A、B、C 组 SD 大鼠股动脉血管病变区血流速度和内径。3 组 SD 大鼠在 T_4 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(0.1~0.2 mL/100 g)麻醉, 放置平卧, 暴露股动脉消毒, 获得长度为 2~3 cm 的大鼠股动脉纵切面, 使用频率为 4~18 Hz 的 Phillip EPIQ 5 MHz 有线探头, 该超声系统具有嵌入式血管壁(ET)模式, 可自动检测血管直径和心脏周期的动态变化。设置 B/M 模式(带运动模式的灰度成像), 设置垂直于动脉壁的超声波束, 在连

续 10 个心脏周期中收集反映动脉经络变化的波形, 包括收缩期直径(DS)和舒张期直径(DD)。人工选择 12 个心脏周期的 5 个稳定波形, 并将收缩压(PS)和舒张压(PD)数据输入超声系统。

1.2.5 Western blot 检测股动脉 PTEN、PI3K 和 Akt

将 RIPA 裂解液与 PMSF 液 100 : 1 混合加入切碎的组织的组织完全裂解后, 1 °C 离心 15 min, 取上清液。利用 BAC 蛋白浓度测定试剂盒, 测定样品蛋白浓度。垂直电泳后, 将蛋白转移至 PVDF 膜, 山羊血清封闭 2 h, 加入一抗在 4 °C 下处理过夜(PETN 1 : 1 000 稀释、PI3K 1 : 1 000 稀释、Akt 1.2 : 1 000 稀释)。二抗在室温下孵育 1 h(1 : 1 000 稀释), 进行 ECL 并曝光薄膜。

1.2.6 总 RNA 的提取与实时荧光定量逆转录-PCR (qRT-PCR)检测 PTEN 基因

采用 TRIzol 法提取股动脉组织总 RNA, 逆转录成 cDNA。引物设计为 PTEN 正向: 5'-CAA TGT TCA GTG GGG GGA ACT T-3', 反向: 5'-GGC AAT GGC TGA GGG AAC T-3'; β -actin 正向: 5'-GCC AAC ACA GTG CTG TCT-3', 反向: 5'-AGG AGC AAT GAT CTT GAT CTT-3'。按 Maxima SYBR Green/ROX qPCR MasterMix(2 \times)试剂盒的步骤操作, 每个样品设置 3 个复孔。PCR 反应条件: 96 °C 预变性 6 min; 96 °C 变性 30 s, 57 °C 退火 30 s, 72 °C 延长 30 s, 40 个循环; 最后 72 °C 延长 10 min。计算 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值。

1.2.7 电镜下观察股动脉结构

将左下肢股动脉置于戊二醛(3%)和四氧化锇(1%)混合液中。经梯度乙醇脱水后, 环氧树脂包埋, 以制成超薄的组织切片。再用醋酸铀酰(30 min)和柠檬酸铅(10 min)进行复染后, 15 000 倍电镜下观察。

1.2.8 免疫荧光检测腓肠肌 CD31

新鲜大鼠腓肠肌组织经 4% 多聚甲醛固定过夜, 30% 蔗糖脱水后石蜡包埋于 -20 °C 冷冻台上进行冰冻, 包埋好的蜡块固定于切片机上, 5~10 μ m 厚切片, 室温晾干后再进行后续染色处理。0.01 枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)充分浸泡标本, 微波炉中低火加热修复, 0.5% Triton X-100(PBS 配制)室温破膜 20 min, PBS 浸洗 3 次, 每次 3 min, 吸水纸吸干 PBS, 滴加山羊血清, 室温封闭 30 min。吸弃山羊血清后加入的稀释一抗, 4 °C 孵育过夜; 回收一抗, 加入 PBS-吐温 20 (PBST), 在摇床上缓慢摇动洗涤 5 min, 共 3 次。吸水纸吸尽洗涤液后滴加稀释好的荧光二抗, 湿盒中孵育 1 h 后, 回收二抗, 接着用 PBST 洗 3 次, 每次 5 min; 玻片上滴加 DAPI, 对本标进行染核, 避光孵育 5

min, 然后用 PBST 洗 3 次, 每次 5 min, 洗去多余的 DAPI。含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 然后在荧光显微镜下观察。

1.3 统计学处理

使用 SPSS20.0 软件进行数据统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著性差异法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血糖变化情况

T_0 时各组大鼠随机血糖差异无统计学意义 ($P > 0.05$); $T_1 \sim T_4$ 时 B、C 组随机血糖较 A 组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), B、C 组随机血糖差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1。

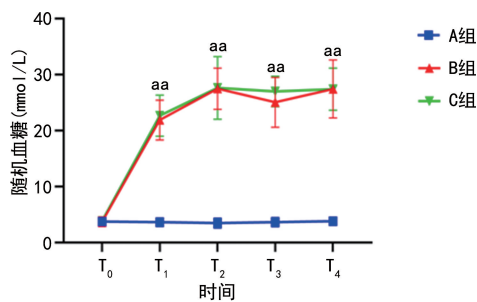
2.2 各组大鼠股动脉血流速度及内径比较

B、C 组 T_4 时股动脉收缩期峰值流速、舒张末期血流速度低于 A 组 ($P < 0.001$), 但 C 组明显高于 B 组 ($P < 0.05$)。3 组间股动脉内径差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

2.3 各组大鼠股动脉 PTEN、PI3K、Akt 表达

B、C 组 PTEN 表达水平明显低于 A 组 ($P < 0.05$), 但 C 组明显高于 B 组 ($P < 0.05$); B 组的

PI3K、Akt 表达水平明显高于 A 组 ($P < 0.05$), C 组明显低于 B 组 ($P < 0.05$), 见图 2。



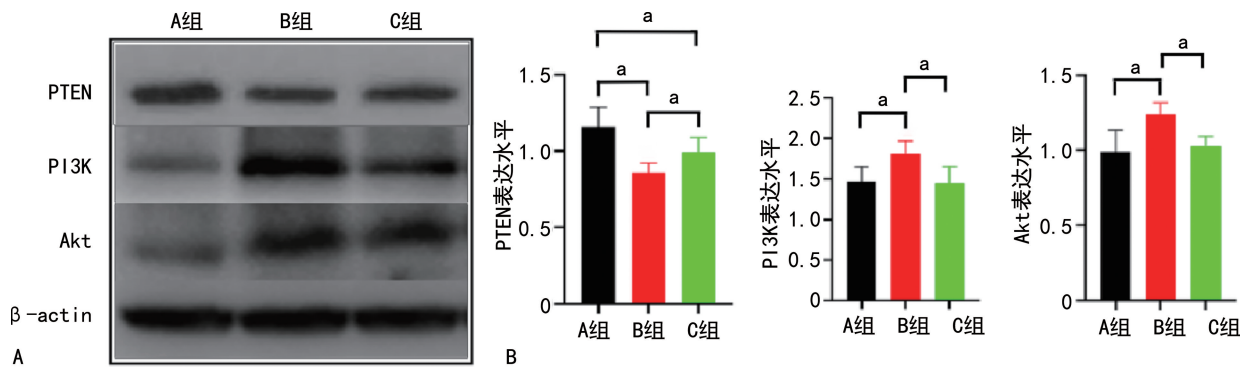
^a: $P < 0.05$, 与 A 组比较。

图 1 各组不同时间点随机血糖

表 1 各组股动脉血流速度及内径比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PSV (cm/s)	EDV (cm/s)	内径 (cm)
A 组	8	49.110 ± 2.015	8.221 ± 0.143	0.118 ± 0.008
B 组	8	21.590 ± 1.278 ^a	5.206 ± 0.095 ^a	0.114 ± 0.007
C 组	8	32.030 ± 1.854 ^{ab}	6.223 ± 0.144 ^{ab}	0.115 ± 0.006
<i>F</i>		507.3	1 128.0	0.9
<i>P</i>		<0.001	<0.001	0.425

PSV: 收缩期峰值流速; EDV: 舒张末期血流速度; ^a: $P < 0.05$, 与 A 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 B 组比较。



A: Western blot; B: 蛋白表达水平统计分析图; ^a: $P < 0.05$ 。

图 2 各组 PTEN、PI3K、Akt 表达水平比较

2.4 各组大鼠股动脉 PTEN mRNA 表达

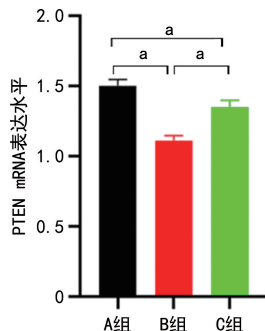
B、C 组 PTEN mRNA 表达水平均明显低于 A 组 ($P < 0.05$), 但 C 组明显高于 B 组 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.5 各组大鼠下肢动脉电镜检查

A 组下肢动脉内皮细胞形态、结构正常, 无空泡性水肿, 细胞紧密相连。B 组大部分内皮细胞包膜缺失, 内皮细胞脱落, 细胞间连接松动甚至断裂, 细胞内线粒体肿胀, 细胞质空泡化。C 组内皮细胞被部分包裹, 大部分紧密连接消失, 被缝隙连接替代, 线粒体呈轻度肿胀, 细胞质空泡化, C 组的内皮细胞损伤较 B 组有所改善, 见图 4。

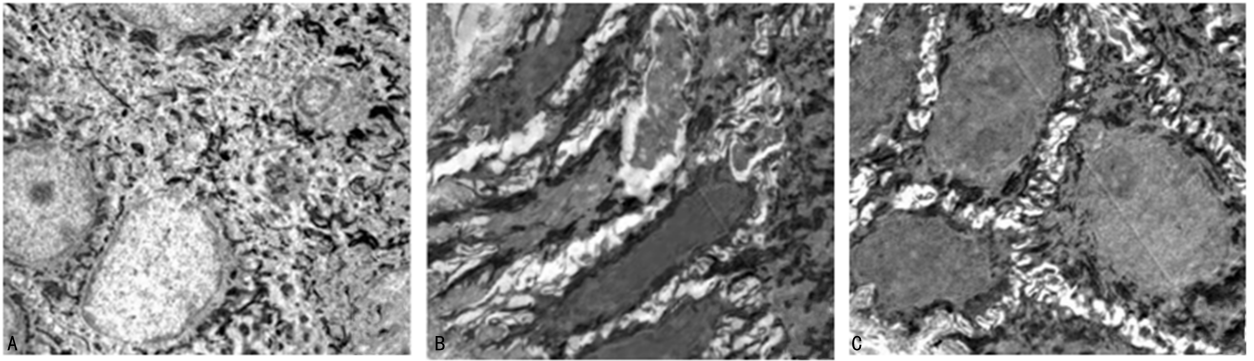
2.6 各组大鼠腓肠肌 CD31 表达

B、C 组血管内皮细胞标志物 CD31 表达水平均明显低于 A 组 ($P < 0.05$), 但 C 组明显高于 B 组 ($P < 0.05$), 见图 5。



^a: $P < 0.05$ 。

图 3 各组 PTEN mRNA 表达水平比较



A:A组;B:B组;C:C组。

图4 各组大鼠股动脉电镜超微结构比较(15 000×)

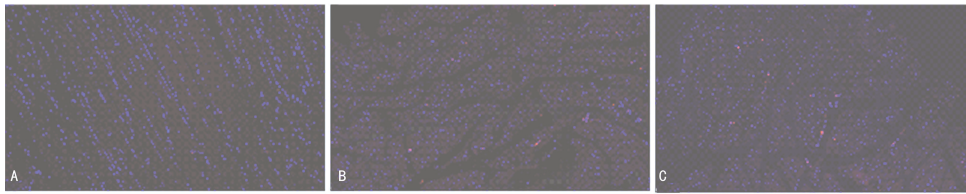
A:A组;B:B组;C:C组;D:CD31表达水平统计分析图。^a: $P < 0.05$ 。

图5 各组大鼠腓肠肌 CD31 表达水平比较(10×)

3 讨 论

下肢动脉疾病(lower extremity arterial disease, LEAD)是糖尿病的一种动脉血管病变,也被称为周围血管疾病(peripheral vascular diseases, PVD)或外周动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD)。LEAD是2型糖尿病常见的大血管并发症之一。大多数患者无典型的症状,约8%的患者在被诊断为糖尿病时已经患有外周动脉疾病^[7]。非创伤性截肢的主要原因是周围血管疾病导致的严重的下肢缺血和下肢血流不足导致的组织失活,而糖尿病患者发生非创伤性截肢的风险是非糖尿病患者的近40倍^[8-9]。糖尿病性下肢缺血是糖尿病的严重并发症之一,它是由于下肢血流脂质代谢异常引起的内皮细胞损伤,可能导致动脉粥样硬化的形成,导致远端血管闭塞,轻者引起足部溃疡,重者导致截肢^[10]。因此,改善糖尿病下肢缺血患者的下肢血流,对延缓动脉粥样硬化的发展具有重要意义。彩色多普勒超声可以从多个切片和角度详细观察下肢血管,了解血管形状和内膜增厚,更准确地测量管腔内径,从而做好血流动力学及患者的病情评估^[11]。在本研究中,股动脉的超声图像显示,糖尿病血管病变大鼠股动脉血流收缩期峰值流速、舒张末期血流速度较健康大鼠下降,而ESWT治疗后的大鼠股动脉收缩期峰值流速、舒张末期血流速度较糖尿病血管病变大鼠增加,3组大鼠股动脉内径并无明显差异。提示ESWT可改善糖尿病大鼠下肢血流。同时,本研究观察到ESWT可以改善高血糖引

起的股动脉内皮细胞包膜丢失、内皮细胞脱落和细胞间连接破坏。这些结果提示,ESWT可以保护糖尿病大鼠的血管,这可能与改善糖尿病大鼠血管内皮细胞的功能和结构有关。

PTEN基因是位于10号染色体上的一种抑癌基因。它具有双特异性磷酸酶活性,在酪氨酸磷酸酶和丝氨酸/苏氨酸介导的信号转导中发挥重要作用。PI3K介导包括细胞膜收缩、细胞内囊泡等细胞运输、能量代谢等重要细胞生理功能,其调节亚基p85是许多细胞内激酶和甘氨酸受体激酶的磷酸化底物,激活的PI3K在细胞膜上生成磷脂酰肌醇三磷酸,然后作为第二信使激活下游蛋白如PI3K/Akt等信号通路^[12]。研究表明,在高糖环境中,PTEN的泛素化修饰能够促进糖尿病肾血管病变,而抑制其泛素化表达可减轻多种原因引起的肾损伤,提示PTEN与糖尿病并发症有一定的相关性^[13];同时SHEN等^[14]的研究也发现PTEN在糖尿病相关血管内皮损伤中的促进作用。最近有研究表明,PTEN可能是一种肾脏保护基因,高表达的PTEN可抑制PI3K/Akt的激活,改善肾足细胞表型,减少肾足细胞损伤^[15-16]。在本研究中,作者观察到糖尿病血管病变大鼠PTEN及其mRNA表达水平低于健康大鼠,而PI3K和Akt表达水平高于健康大鼠,表明PTEN与糖尿病相关血管并发症有一定的联系。

ESWT是一种利用机械波经反射器发射后集中形成的高能量的冲击波,是一种短暂的针状单压力正

脉冲,并伴随几微秒的低振幅拉伸;这种脉冲机械刺激能激活细胞骨骼附件,进而调节 mRNA 合成释放及各种细胞器官的功能,最终引起细胞分泌及表型的改变^[17]。ESWT 最初被用于治疗泌尿系统结石疾病。近年来,它被发现可以通过机械传导产生声学效应,并在体内引起生物效应,所以它被用于治疗各种泌尿系结石以外的疾病^[18-20],例如其他泌尿系疾病^[21-22]、肌肉骨骼疾病^[23-25]、心血管系统疾病^[26]等。ESWT 可以通过集中释放能量来促进受损组织的再生。ESWT 作用于缺血器官和组织后,可恢复血液灌注,改善微循环,减少炎症反应,改善相关缺血器官的功能障碍^[20]。有研究发现,ESWT 可诱导冠心病患者复杂的血管内皮细胞短期和长期级联反应,通过上调血管内皮生长因子,促进一氧化氮的产生及加速侧支循环建立,来促进缺血心肌血管生成,改善心肌灌注,增加毛细血管密度^[27]。本研究观察到 B、C 组腓肠肌微血管密度较 A 组大鼠降低,C 组经 ESWT 治疗后微血管密度较 B 组增加,C 组 PTEN 表达水平高于 B 组,而 PI3K 和 Akt 表达水平低于 B 组,表明 ESWT 可以上调 PTEN 的表达水平,抑制 PI3K/Akt 的激活。

综上所述,ESWT 可通过上调血管 PTEN,下调 PI3K/Akt 活性,增加腓肠肌微血管密度,缓解糖尿病下肢血管病变,增加血流量。目前,糖尿病并发症主要的治疗方法仍围绕着控制血压和血糖,而 ESWT 作为一种无创、不良反应小的治疗方式,使其有可能被用于治疗糖尿病血管病变。但本研究仅为动物实验,其具体机制仍有待进一步研究,并且需要进一步的临床试验对其可行性进行验证。

参考文献

- [1] GHOSH S, LUO D, HE W, et al. Diabetes and calcification: the potential role of anti-diabetic drugs on vascular calcification regression[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 158: 104861.
- [2] JIAO X M, ZHANG X G, XU X U, et al. Blood glucose fluctuation aggravates lower extremity vascular disease in type 2 diabetes[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(14): 2025-2030.
- [3] LONG J, HE C J, DING H, et al. Effect of shock wave on vascular lesions in diabetic rats[J]. *Pain Physician*, 2019, 22(5): E505-510.
- [4] 余倩,贺纯静,康新国,等.不同能量冲击波对大鼠糖尿病神经痛的影响[J].*中华麻醉学杂志*, 2018, 38(12): 1471-1475.
- [5] 龙娟,丁华,黄朝东,等.体外冲击波治疗对大鼠糖尿病神经病变的影响[J].*中华麻醉学杂志*, 2019, 39(12): 1472-1475.
- [6] ZHANG J Y, MA J, YU P, et al. Reduced beta 2 glycoprotein I prevents high glucose-induced cell death in HUVECs through miR-21/PTEN[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9): 3935-3949.
- [7] YANG S L, ZHU L Y, HAN R, et al. J Pathophysiology of peripheral arterial disease in diabetes mellitus[J]. *Diabetes*, 2017, 9(2): 133-140.
- [8] MOHAMMEDI K, WOODWARD M, HIRAKAWA Y, et al. Presentations of major peripheral arterial disease and risk of major outcomes in patients with type 2 diabetes: results from the ADVANCE-ON study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15(1): 129.
- [9] UGWU E, ADELEYE O, GEZAWA I, et al. Predictors of lower extremity amputation in patients with diabetic foot ulcer: findings from MEDFUN, a multi-center observational study[J]. *J Foot Ankle Res*, 2019, 12: 34.
- [10] CHAMBERLAIN R C, FLEETWOOD K, WILD S H, et al. Foot ulcer and risk of lower limb amputation or death in people with diabetes: a national population-based retrospective cohort study[J]. *Diabetes Care*, 2022, 45(1): 83-91.
- [11] SALLE L, MAGNE J, KENNE MALAHA A, et al. Ultrasound-detected tibial artery calcification as a marker of cardiovascular and lower-limb risk in asymptomatic patients with type-2 diabetes[J]. *Vasc Med*, 2023, 28(6): 538-546.
- [12] CHEN C Y, CHEN J, HE L, et al. PTEN: tumor suppressor and metabolic regulator[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 338.
- [13] LI Y, HU Q, LI C, et al. PTEN-induced partial epithelial-mesenchymal transition drives diabetic kidney disease[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3): 1129-1151.
- [14] SHEN X, CHEN X, WANG J, et al. SET8 suppression mediates high glucose-induced vascular endothelial inflammation via the upregulation of PTEN[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(10): 1715-1729.

- [15] LU J M,ZHANG Z Z,MA X,et al. Repression of microRNA-21 inhibits retinal vascular endothelial cell growth and angiogenesis via PTEN dependent-PI3K/Akt/VEGF signaling pathway in diabetic retinopathy[J]. *Exp Eye Res*,2020,190:107886.
- [16] XU Z,JIA K,WANG H,et al. METTL14-regulated PI3K/Akt signaling pathway via PTEN affects HDAC5-mediated epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells in diabetic kidney disease[J]. *Cell Death Dis*,2021,12(1):32.
- [17] AUERSPERG V,TRIEB K. Extracorporeal shock wave therapy: an update[J]. *EFORT Open Rev*,2020,5(10):584-592.
- [18] HOLFELD J,ZIMPFER D,ALBRECHT-SCHGOER K,et al. Epicardial shock-wave therapy improves ventricular function in a porcine model of ischaemic heart disease[J]. *J Tissue Eng Regen Med*,2016,10(12):1057-1064.
- [19] KISCH T,WUERFEL W,FORSTMEIER V,et al. Repetitive shock wave therapy improves muscular microcirculation [J]. *J Surg Res*,2016,201(2):440-445.
- [20] GOERTZ O,HAUSER J,HIRSCH T,et al. Short term effects of extracorporeal shock waves on microcirculation[J]. *J Surg Res*,2015,194(1):304-311.
- [21] LIN K L,LU J H,CHUEH K S,et al. Low-intensity extracorporeal shock wave therapy promotes bladder regeneration and improves overactive bladder induced by ovarian hormone deficiency from rat animal model to human clinical trial[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(17):9296.
- [22] 黄合琴,曹晋,张常贵,等. 体外冲击波治疗足踝部骨髓水肿综合征的临床研究[J]. *重庆医学*,2022,51(24):4165-4168,4174.
- [23] CHUNG E,LEE J,LIU C C,et al. Clinical practice guideline recommendation on the use of low intensity extracorporeal shock wave therapy and low intensity pulsed ultrasound shock wave therapy to treat erectile dysfunction: the asia-pacific society for sexual medicine position statement[J]. *World J Mens Health*,2021,39(1):1-8.
- [24] LIU W C,CHEN C T,LU C C,et al. Extracorporeal shock wave therapy shows superiority over injections for pain relief and grip strength recovery in lateral epicondylitis: a systematic review and network meta-analysis[J]. *Arthroscopy*,2022,38(6):2018-2034.
- [25] YANG X,SHI L,ZHANG T,et al. High-energy focused extracorporeal shock wave prevents the occurrence of glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head:a prospective randomized controlled trial[J]. *J Orthop Translat*,2022,36:145-151.
- [26] YANG J P,LEE Y N,SON J W,et al. The impact of extracorporeal shock wave therapy on microcirculation in diabetic feet: a pilot study [J]. *Adv Skin Wound Care*,2019,32(12):563-567.
- [27] TAKAKUWA Y,SARAI M,KAWAI H,et al. Extracorporeal shock wave therapy for coronary artery disease: relationship of symptom amelioration and ischemia improvement[J]. *Asia Ocean J Nucl Med Biol*,2018,6(1):1-9.

(收稿日期:2024-01-26 修回日期:2024-04-22)

(编辑:姚雪)