

· 创面修复探索 ·

糖尿病皮肤组织“隐性损害”机制研究进展

葛小静 姜育智 章宏伟



Advances in research of the mechanism of “covert disorder” in diabetic skin GE Xiao-jing, JIANG Yu-zhi, ZHANG Hong-wei. Department of Burns and Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: ZHANG Hong-wei, Email: zhanghw1966@yahoo.com.cn, Tel: 025-68136805

【Abstract】 The diabetic ulceration is not uncommon, and becomes refractory, as the skin in a diabetic patient is relatively thin as well as hypoesthetic and less sensitive to temperature. As there are already preexisting histological and cellular derangement in the skin, healing of the skin injury is difficult, thus resulting in an intractable ulceration. When diabetes is not controlled, the skin contents of sugar and advanced glycation end product accumulate, invoking cellular deformation and accumulation of matrix metalloproteinases (MMP), resulting in an imbalance between MMP and its inhibitors, malfunction of growth factors, and inflammatory reaction. These processes lead to obvious skin thinning, denaturation of connective tissues, thickening of vascular basal membrane, and neuropathy, etc. These pathological alterations could be recognized as “covert disorder” of skin in diabetic patients and may be underlying disorders in producing indolent diabetic ulcers.

【Key words】 Diabetes mellitus; Diabetic neuropathies; Skin; Wound healing; Microangiopathy

【关键词】 糖尿病; 糖尿病神经病变; 皮肤; 伤口愈合; 微血管病变

糖尿病皮肤损伤由自发性或外源性创面引起,其中糖尿病足的皮肤损伤发生率较高,其难愈性以及带来的截趾(肢)风险,至今仍是临床面临的重大难题,需从糖尿病创面的发病机制来探寻较为有效的治疗方法。在病程较长的糖尿病皮肤创面中存在高糖和晚期糖基化终末产物(AGE)的蓄积,可引起皮肤微环境的改变即“微环境污染”^[1],进而引起细

胞、基质、组织等改变,包括诸多细胞因子失衡引发的一系列皮肤“隐性损害”^[2-3]等。另外传统观点认为,糖尿病创面形成和难愈是由血管、神经因素造成,然而此观点不能完全解释创面进展中的各种现象,针对它们的治疗策略也未能解决创面难愈问题。因此,需高度重视皮肤组织的“隐性损害”问题^[4],并结合血管与神经的多方面细胞及分子生物学异常研究,寻找糖尿病创面难愈的机制。

1 高糖及 AGE 与“隐性损害”

糖尿病以高血糖为主要临床判定标准,例如糖尿病大鼠皮肤中存在长期的高糖蓄积,且与血糖水平密切相关。在高糖环境下,糖的醛基与蛋白质的氨基或脂质、核酸等大分子物质自发产生非酶糖基化反应(又称 Maillard 反应),最终形成不可逆转化的 AGE^[5],且其随着病程进展不断蓄积。越来越多的证据表明,AGE 对糖尿病并发症的发生、发展以及机体老化均起着重要作用,可通过直接作用和受体途径引起组织、细胞功能的紊乱^[6]。

体外实验显示,分别采用高糖、AGE-人血清白蛋白干预,可使 KC、内皮细胞和 Fb 活力下降,凋亡细胞比例增加,细胞贴壁能力减弱,并呈时效和量效关系;其中 AGE 的损害作用大于高糖,内皮细胞的耐受性低于 Fb^[7-9]。在糖尿病大鼠实验中随着病程进展,皮肤组织中的糖含量和 AGE 含量不断增加,同时可见表皮层及真皮层厚度变薄,表皮细胞增殖受抑,Ⅰ、Ⅲ型胶原比例失调,基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 水平以及 MMP-2/MMP-2 组织抑制剂 (TIMP-2) 比值明显高于正常大鼠,炎性细胞局灶浸润等^[10]。由此可见,高糖环境、AGE 的蓄积与糖尿病皮肤组织的“隐性损害”密不可分。

2 糖尿病皮肤组织损害

2.1 皮肤组织学改变

与正常大鼠比较,糖尿病大鼠表皮层厚度明显变薄,层次欠清晰,部分细胞缺乏复层排列,棘细胞

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.01.012

基金项目:国家自然科学基金(30872685、81000838、81071568、81071566、30700871、30600645)

作者单位:210029 南京医科大学第一附属医院整形烧伤外科(葛小静、章宏伟);上海交通大学医学院附属瑞金医院上海市烧伤研究所,上海市创面修复研究中心(姜育智)

通信作者:章宏伟,Email:zhanghw1966@yahoo.com.cn,电话:025-68136805

数量减少。随着病程延长,糖尿病大鼠表皮细胞层数减少至 1~2 层,棘细胞层、颗粒层明显缺失,细胞形态不一致,皮肤厚薄不均。糖尿病大鼠真皮层胶原纤细,排列紊乱,Ⅲ型胶原分泌增加,Ⅰ、Ⅲ型胶原交织排列,部分胶原出现变性、断裂,胶原变性区域可见慢性炎性细胞局灶浸润^[3]。

2.2 细胞生物学行为改变

正常皮肤组织 KC 以椭圆形或多边形为主,糖尿病皮肤组织 KC 呈矮柱状或扁平状。体外培养糖尿病鼠来源的 KC,其活力和黏附力均低于正常大鼠,细胞增殖受抑并呈现 S 期滞留^[11];细胞周期相关调控因子(细胞周期蛋白依赖性激酶 4、Ki67)和促有丝分裂因子活性均发生改变^[12];细胞表面 2 种细胞间隙连接蛋白(Cx43、Cx26)表达量下降^[10]。

Fb 是合成和分泌Ⅰ、Ⅲ型胶原的主要细胞,呈星形或梭形。糖尿病大鼠 Fb 呈类圆形、锯齿状皱缩的异常形态。体外培养见糖尿病大鼠来源的 Fb 迁移能力下降^[13-14]。Fb 的改变导致胶原合成紊乱,病程长的糖尿病大鼠单位面积皮肤组织内的羟脯氨酸含量明显减少,提示其真皮 Fb 的胶原合成能力下降,并存在胶原变细及变性现象,Ⅰ、Ⅲ型胶原交织排列,Ⅰ、Ⅲ型胶原比例失调等^[3]。

2.3 MMP 及 TIMP

MMP 是一类具有共同生化性质的锌依赖性肽链内切酶,是参与 ECM 降解的主要蛋白酶之一。酶的激活调控包括转录水平、酶原激活和 TIMP 3 个方面。TIMP 是 MMP 的内源性抑制剂,具有抑制 ECM 更新、抑制血管化、促细胞分裂、改变细胞形态等生物学功能。Wall 等^[15]和严励等^[16]的研究提示,糖尿病患者未受损真皮 Fb 中 MMP-2、MMP-3 水平均升高。Brandner 等^[17]和牛轱雯等^[18]的研究也表明,糖尿病皮肤在创伤前后,MMP 及相关生物活性物质的平衡均出现异常,MMP-2/TIMP-2 比值升高可能是糖尿病皮肤胶原排列稀疏、肿胀变性、间距增宽的原因之一。

2.4 炎症反应

糖尿病皮肤未损伤之前可能出现如下情况:炎症反应带的形成,中性粒细胞数量的增多,炎性细胞局灶浸润但变形性差、趋化滞后,氧自由基含量及炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 水平升高(均高于正常值),这些因素都可能使糖尿病皮肤处于较高风险中。

2.5 生长因子

与正常皮肤比较,糖尿病皮肤的生长因子表达量并未减少反而增多,但对组织修复却呈现低反应

性^[19]。给予外源性生长因子就能促进糖尿病创面愈合^[20],证明糖尿病皮肤内源性生长因子功能已经受损。应用免疫荧光双标记技术可观察到 bFGF 与 AGE 共表达于同一部位,由此推测 AGE 的蓄积可能为生长因子发生了糖基化改变,进而失去正常功能活性。目前应用各种生长因子治疗糖尿病难愈创面已成为热点。

2.6 氧化应激

高血糖可以通过细胞内葡萄糖氧化、蛋白糖基化及 AGE 的形成等不同途径产生活性氧,当活性氧产生过多和(或)机体的抗氧化能力下降,就会导致组织和细胞一系列损害。同时氧化应激又会通过减少胰岛素的合成与分泌、增加胰岛素抵抗等途径干涉糖代谢,由此形成恶性循环^[21]。在糖尿病大鼠皮肤中,丙二醛、髓过氧化物酶、SOD 水平及总抗氧化能力均高于正常大鼠,提示糖尿病大鼠皮肤组织的氧化和抗氧化能力活跃^[22]。研究表明,氨基胍霜剂能改善糖尿病大鼠皮肤氧化应激水平^[23-24]。

3 糖尿病微血管改变

微血管障碍、微血管瘤形成和微血管基底膜增厚是糖尿病微血管病变的典型变化,其大致程序为:微循环功能性改变—内皮损伤—基底膜增厚—血黏度增高—红细胞聚集—血小板黏附和聚集—微血栓形成和(或)微血管闭塞。对于糖尿病微血管病变存在多种学说,如多元醇通路学说、非酶糖基化学说、蛋白激酶 C 系统学说、氧化应激学说及己糖胺通路学说等^[25]。该病变的发展受多种因素影响,发病机制尚未完全阐明。微血管在糖尿病创面未形成之前发生的病变,以及在创面愈合过程中出现的血管形成困难和微循环障碍,均可能是糖尿病创面形成和难愈的重要原因。

4 糖尿病神经改变

糖尿病神经病变是糖尿病最常见、最复杂的慢性并发症之一,引起糖尿病患者病死率和致残率升高。在非外伤性截肢的原因中,50%~75% 由神经病变型糖尿病足造成^[26]。该病变的病理改变主要为神经远端变性、神经纤维丧失、阶段性脱髓鞘和髓鞘再生,发病机制尚不完全清楚,目前大量研究认为主要病因是长期严重的高血糖导致的代谢障碍、微循环异常和自身免疫紊乱^[27-28]。陈宾等^[29]的研究证实,高糖和 AGE 蓄积是导致糖尿病皮肤神经病变的重要原因,使糖尿病皮肤具有不同于正常皮肤的

创伤起点,可持续影响创面愈合进程并最终导致创面难愈。

5 结语

糖尿病创面的难愈性可认为是在糖尿病皮肤、血管及神经等“隐性损害”基础上引发的一系列修复失调与损害共存的局面,以及两方面相互制衡、相互影响的恶性循环。要解决糖尿病创面难愈问题,控制血糖无疑仍是预防和治疗的的首要任务。糖尿病皮肤组织损伤和血管、神经病变之间是否存在先后顺序,或者相互制约关系,目前有关研究还较为罕见,仍需我们继续探索。

参考文献

- [1] 陆树良,谢挺,牛轶雯.创面难愈机制研究——糖尿病皮肤的“微环境污染”.中华烧伤杂志,2008,24(1):3-5.
- [2] 林炜栋,陈向芳,刘志民,等.糖尿病大鼠皮肤损害及其机制研究.中华内分泌代谢杂志,2010,26(1):62-65.
- [3] 陆树良,青春,谢挺,等.糖尿病皮肤“隐性损害”的机制研究.中华创伤杂志,2004,20(8):468-473.
- [4] 陆树良,谢挺,牛轶雯,等.糖尿病合并创面难愈的机制研究.药品评价,2011,8(7):17-21.
- [5] Thomas MC. Advanced glycation end products. Contrib Nephrol, 2011,170:66-74.
- [6] 郝金成,穆振国,郭见光.晚期糖基化终末产物与糖尿病慢性并发症的关系.中国民康医学,2006,18(7):594-595.
- [7] 林炜栋,陆树良,青春,等.晚期糖基化终末产物修饰人血清白蛋白对人血管内皮细胞的生长抑制作用.中华医学杂志,2003,83(7):572-576.
- [8] 王敏骏,陆树良,盛昭园,等.高糖环境中真皮成纤维细胞生物学行为的变化.中国糖尿病杂志,2006,14(2):137-141.
- [9] Dong J, Takami Y, Tanaka H, et al. Protective effects of a free radical scavenger, MCI-186, on high-glucose-induced dysfunction of human dermal microvascular endothelial cells. Wound Repair Regen, 2004,12(6):607-612.
- [10] Wang CM, Lincoln J, Cook JE, et al. Abnormal connexin expression underlies delayed wound healing in diabetic skin. Diabetes,2007,56(11):2809-2817.
- [11] 田鸣,青春,牛轶雯,等.晚期糖基化终末产物对表皮角质形成细胞功能的影响及其机制.中华创伤杂志,2006,22(10):779-782.
- [12] 董叫云,牛轶雯,谢挺,等.糖基化终末产物对人表皮角质形成细胞周期调控的影响机制.创伤外科杂志,2009,11(5):402-406.
- [13] 牛轶雯,陆树良,青春,等.糖基化细胞外基质对成纤维细胞生物学行为的影响.上海第二医科大学学报,2004,24(9):697-699,741.
- [14] 陈莉,肖正华,陈定宇,等.晚期糖基化终末产物对成纤维细胞形态及增殖功能的影响.现代医院,2011,11(6):18-20.
- [15] Wall SJ, Sampson MJ, Levell N, et al. Elevated matrix metalloproteinase-2 and-3 production from human diabetic dermal fibroblasts. Br J Dermatol, 2003,149(1):13-16.
- [16] 严励,朱平,陈黎红,等.MMP-9/TIMP-1 表达失衡与糖尿病大鼠皮肤“隐性损害”关系的初步探讨.中华内分泌代谢杂志,2008,24(5):533-536.
- [17] Brandner JM, Zacheja S, Houdek P, et al. Expression of matrix metalloproteinases, cytokines, and connexins in diabetic and non-diabetic human keratinocytes before and after transplantation into an ex vivo wound-healing model. Diabetes Care, 2008,31(1):114-120.
- [18] 牛轶雯,陆树良,青春,等.基质金属蛋白酶-2 及其组织抑制因子-2 在糖尿病皮肤损伤修复过程中的动态变化.中国临床康复,2004,8(17):3397-3399.
- [19] 乔亮,陆树良,高见佳宏,等.高糖环境对浅二度烫伤创面 VEGF 表达及创面血管化的影响.上海交通大学学报(医学版),2006,26(8):860-864.
- [20] 牛轶雯,谢挺,葛奎,等.FGF₂ 对糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面愈合的影响.上海交通大学学报(医学版),2009,29(2):121-125.
- [21] 毛晓明,刘志民.氧化应激在糖尿病糖代谢中的作用.江苏医药,2005,31(3):212-213.
- [22] 刘继松,方勇.氧化应激和糖尿病创面的延迟愈合.蚌埠医学院学报,2010,35(7):756-757.
- [23] 胡晓昀,钱培芬.氨基胍霜剂对糖尿病皮肤氧化应激影响的研究.护理研究,2009,23(4):1049-1051.
- [24] 田鸣,青春,曹晓赞,等.外敷氨基胍霜剂对糖尿病大鼠皮肤组织的影响.中华烧伤杂志,2011,27(1):21-25.
- [25] 黄锦欢,王冰.糖尿病微血管病变的防治研究进展.医学综述,2010,16(18):2803-2805.
- [26] Davies M, Brophy S, Williams R, et al. The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes. Diabetes Care, 2006,29(7):1518-1522.
- [27] Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. Nat Rev Neurosci, 2008,9(1):36-45.
- [28] Chudzik W, Kaczorowska B, Przybyła M, et al. Diabetic neuropathy. Pol Merkur Lekarski, 2007,22(127):66-69.
- [29] 陈宾,牛轶雯,谢挺,等.糖尿病大鼠皮肤组织糖代谢紊乱与皮肤神经病变相关性研究.中华烧伤杂志,2011,27(2):139-144.

(收稿日期:2011-11-02)

(本文编辑:莫愚)

· 消息 ·

本刊 2012 年下半年及 2013 年第 1 期重点号预告

- 2012 年第 4 期 创面修复的美学问题 组稿专家:张国安,Email:zhangga777@126.com,责任编辑:莫愚,Email:moyu48@163.com
- 2012 年第 5 期 创面覆盖物 组稿专家:胡大海,Email:hudhai@fmmu.edu.cn,责任编辑:罗勤,Email:luoqinluoqin@163.com
- 2012 年第 6 期 特殊原因烧伤(电烧伤、化学烧伤等) 组稿专家:谢卫国,Email:wgxie@hotmail.com,责任编辑:谢秋红,Email:qiuqiu703@yahoo.com.cn
- 2013 年第 1 期 儿童烧伤的救治 组稿专家:彭毅志,Email:yizhipen@sina.com,责任编辑:王旭,Email:zwangxu05@163.com

本刊编辑部