

· 临床研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2018)26-02-0176-05

2 型糖尿病膝下动脉病变患者介入治疗前后缺血动脉内氧化应激标志物的变化及意义

段纬喆, 赵 湜, 毛 红

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院内分泌科, 湖北省武汉市 430012)

[关键词] 2 型糖尿病; 下肢动脉硬化闭塞症; 介入治疗; 氧化应激标志物

[摘要] **目的** 观察 2 型糖尿病(T2DM)下肢动脉硬化闭塞症(ASO)患者下肢动脉介入治疗前后病变动脉内氧化应激标志物的变化,探讨 T2DM 合并 ASO 患者体内氧化应激水平及介入治疗对动脉内氧化应激标志物的影响。**方法** 选择接受介入治疗的 T2DM 合并膝下动脉(胫腓动脉)病变的患者 30 例,入组患者均行下肢动脉造影检查(DSA),部分患者还需要行经皮腔内血管成形术(PTA)。单纯行 DSA 患者为 14 例(造影组),DSA+PTA 患者为 16 例(治疗组)。造影组和治疗组患者均在介入手术前行常规检查并抽取静脉血测血脂、糖化血红蛋白(HbA1c)和氧化应激标志物水平,包括超氧化物歧化酶(SOD)以及脂质过氧化物终产物丙二醛(MDA)。造影组、治疗组还需取介入治疗前动脉血 3 mL,此外治疗组在缺血动脉远端同一部位取 PTA 术前术后动脉血。上述标本均测 SOD、MDA 水平。**结果** 造影组患者下肢动脉造影未见明显狭窄。治疗组术前动静脉血 SOD 水平低于造影组,MDA 水平高于造影组($P<0.05$)。造影组、治疗组各组内介入术前静脉血与动脉血 SOD、MDA 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗组介入术前缺血部位 SOD 水平较介入治疗前动脉血水平低($P<0.05$),MDA 水平较介入治疗前动脉血水平高($P<0.05$)。治疗组介入术后缺血部位 SOD 水平较介入术前缺血部位及介入术前动脉血 SOD 均降低($P<0.05$),MDA 水平较介入术前缺血部位及介入术前动脉血中水平均升高($P<0.05$)。**结论** 介入术前后患者使用抗氧化应激药物可能会改善处理病变的远期预后,减少血管再狭窄发生。

[中图分类号] R528.1

[文献标识码] A

Changes and significance of oxidative stress markers in knee artery disease before and after interventional therapy in patients with type 2 diabetes mellitus

DUAN Wei-Zhe, ZHAO Shi, MAO Hong

(Department of Endocrinology, The Central Hospital of Wuhan Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430012, Hubei, China)

[KEY WORDS] Type 2 diabetes mellitus; Arteriosclerosis obliterans; Interventional therapy; Markers of oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To observe the changes of intraarterial oxidative stress markers in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) combined with arteriosclerosis obliterans (ASO) before and after treatment of lower extremity arteries, and to investigate the effect of oxidative stress in patients with T2DM combined with ASO and the effect of interventional therapy on intraarterial oxidative stress markers. **Methods** Thirty patients with T2DM complicated with subendocardial artery (tibiofibular artery) who underwent interventional therapy were enrolled in the study. All patients underwent lower extremity digital subtraction angiography (DSA), some patients also underwent percutaneous transluminal angioplasty (PTA). 14 patients were treated with DSA alone (control group), and 16 patients in DSA+PTA (treatment group). In the control group and the treatment group, routine examinations were performed before interventional operation, and venous blood was taken to measure blood lipid, hemoglobin A1c (HbA1c) and oxidative stress markers, including serum superoxide dismutase (SOD), and the lipid peroxides final product malondialdehyde (MDA). The control group and the

[收稿日期] 2017-08-20

[修回日期] 2017-10-05

[基金项目] 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院科研基金(2017Y17)

[作者简介] 段纬喆, 硕士研究生, 主治医师, 主要研究方向为糖尿病周围血管病及糖尿病足的综合治疗, 尤其擅长腔内介入治疗下肢动脉硬化闭塞症, E-mail 为 duanweizhe@zxhospital.com。通讯作者赵湜, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为糖尿病并发症的诊治, E-mail 为 zhaoshiwuhan@126.com。

treatment group were also required to take 3 mL of the arterial blood before the intervention. In addition, the arterial blood of the treatment group was taken before and after PTA in the same part of the distal artery of the ischemic artery. SOD, MDA levels were measured in the above samples. **Results** There was no obvious stenosis in the arteriography of the lower extremity in the control group. Preoperative SOD level in arterial and venous blood was lower in the treatment group than that in the control group, MDA level was higher than that in the control group ($P<0.05$). There was no significant difference in the levels of SOD and MDA between venous blood and arterial blood before the intervention in the control group and the treatment group ($P>0.05$). The SOD level of the treatment group was lower in the ischemic area before the intervention than that of the arterial blood ($P<0.05$), but the MDA level was higher ($P<0.05$). The SOD level of the treatment group were lower in the ischemic area after intervention than that of the ischemic area and the arterial blood before intervention ($P<0.05$), but the MDA level was higher ($P<0.05$). **Conclusion** The use of antioxidation stress drugs before and after intervention may improve the long-term prognosis of treatment and reduce the incidence of restenosis.

糖尿病发病率逐年增高,糖尿病常见的并发症下肢血管病变也明显增多。糖尿病下肢血管病变,多累及股动脉、髂动脉、膝下动脉,后者主要包括胫前动脉,其次是腓动脉、胫后动脉。近年来,随着介入技术和器材的不断发展与成熟,经皮腔内血管成形术(percutaneous transluminal angioplasty,PTA)因具有微创、安全、有效等特点,被广泛应用于糖尿病下肢血管病变的血管重建治疗中^[1],但介入术后出现的血管再狭窄影响长期预后。氧化应激能引起内皮功能紊乱,对血管损伤后的再狭窄起着重要作用,介入术后血管内皮细胞受损生成大量的活性氧,直接刺激血管平滑肌细胞增殖,并通过脂质过氧化扰乱内皮细胞内稳态和损伤内皮细胞^[2],加速了血管再狭窄的形成。本研究通过研究糖尿病下肢血管病变患者血管重建介入治疗前后氧化应激标志物的变化,探究影响糖尿病下肢血管病变介入远期疗效的危险因素。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选择 2015 年 11 月至 2016 年 11 月在我院内分泌科住院并接受介入治疗的 2 型糖尿病合并下肢血管病变的患者共 30 例。其中,单纯行下肢动脉造影者,即造影组 14 例,男 10 例,女 4 例,年龄 67.1±8.7 岁。行下肢动脉造影并下肢动脉血管腔内成形术(PTA)者,即治疗组 16 例,男 8 例,女 8 例,年龄 68.8±9.8 岁。两组年龄、性别、病程、体质指数、抽烟人数等指标差异无统计学意义(表 1)。对象入选条件:①符合 1999 年 WHO 规定的糖尿病诊断标准;②患者均有下肢血管病变的临床表现(Fontaine 分期Ⅱb 和Ⅲ期),下肢动脉彩色多普勒超声检查提示病变部位狭窄>50%以上或闭塞、踝臂指数(ABI)<0.9 或多排螺旋 CT 血管造影(CT angiography,CTA)

提示双下肢血管狭窄或闭塞。排除标准:①糖尿病酮症酸中毒、高渗状态、急性感染者;②严重肝肾功能或心肺功能不全者;③多器官功能衰竭者;④不能耐受者;⑤恶性肿瘤患者。

表 1. 两组患者一般临床资料比较
Table 1. Comparison of general clinical data between the two groups of patients

临床资料	造影组	治疗组	P 值
年龄(岁)	67.1±8.7	68.8±9.8	>0.05
男/女(例)	10/4	8/8	>0.05
病程(年)	7.1±2.9	8.2±2.8	>0.05
体重指数(kg/m ²)	24.84±1.50	24.81±1.80	>0.05
吸烟(例)	11	12	>0.05

1.2 介入手术过程

患者术前禁食禁水 4 h,平卧,利多卡因局麻下行改良 Seldinger 穿刺法穿刺股动脉。根据患者下肢血管彩超或 CTA 提示以及动脉搏动情况选择哪一侧股动脉,若髂动脉病变较重,可考虑顺行行穿刺股动脉^[3]。穿刺成功后置入 6F 动脉鞘,并给予肝素钠全身肝素化。随后经鞘管对穿刺点同侧下肢行分段造影以进一步明确病变部位与程度。在通过 Cobra 导管“翻山”至对侧行穿刺点对侧下肢血管分段造影。如血管无明显狭窄或狭窄程度不超过 75%,给予拔出导管鞘,压迫止血。如分段造影显示动脉下肢狭窄程度大于 75%(图 1),则通过导引导丝、导管穿过病变部位至远端(图 2),将球囊导引至病变处,缓慢加压充盈扩张球囊(图 3)。因膝下血管直径较小,一般只采用球囊扩张(图 4)。治疗后拔鞘,压迫止血。

1.3 标本采集和处理

造影组和治疗组患者于手术当天清晨平卧位取肘静脉血 3 mL(介入前静脉血)。测血脂、糖化血



图 1. 下肢动脉造影 提示左下肢胫前动脉完全闭塞。

Figure 1. Lower extremity arterial angiography



图 2. 导丝开通闭塞段血管

Figure 2. The guide wire opens the occluded blood vessel



图 3. 经导丝送入球囊扩张病变血管

Figure 3. Through the guide wire into the balloon dilatation lesions vascular

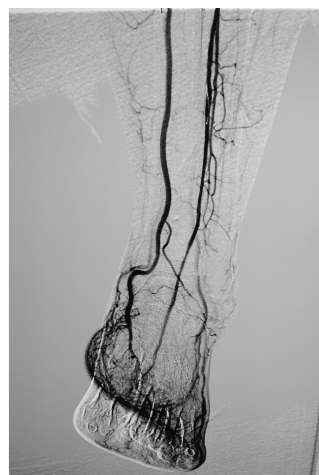


图 4. 治疗后胫前动脉血流恢复

Figure 4. Recovery of blood flow of anterior tibial artery after treatment

红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平。造影组和治疗组在手术过程中,动脉鞘置入后经鞘管取动脉血(介入治疗前动脉血),治疗组在当导丝导管通过狭窄或闭塞部位,于病变远端取血 3 mL(缺血部位介入治疗前动脉血),球囊扩张后,在病变远端同一部位取血 3 mL(缺血部位介入治疗后动脉血)。取血后立即离心,分离血清, -20°C 保存待测。酶法测定血脂,离子交换层析法测定 HbA1c,氧化应激标志物测定通过氧化应激检测试剂盒严格按照说明书操作(Enzo, 广州波柏贸易有限公司)。

1.4 统计学处理方法

采用 SPSS18.0 统计学软件分析处理,采用 t 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

14 例患者下肢动脉造影无明显狭窄或狭窄较轻而无需行腔内治疗列为造影组。16 例为膝下动脉狭窄,均成功行球囊扩张术列为治疗组。

2.1 两组常规检测结果比较

造影组与治疗组甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDLC)及高密度脂蛋白(HDLC)相比差异无统计学意义($P > 0.05$),治疗组 HbA1c 水平高于造影组($P < 0.05$; 表 2)。

表 2. 两组患者血脂及 HbA1c 比较

Table 2. Comparison of blood lipids and Hemoglobin A1C between the two groups of patients

指 标	造影组	治疗组
TC (mmol/L)	4.25±0.82	4.26±0.58
TG (mmol/L)	1.85±0.36	1.92±0.3
HDLc (mmol/L)	1.26±0.45	1.35±0.41
LDLC (mmol/L)	2.42±0.89	2.88±0.75
HbA1c (%)	7.75±1.60	8.56±1.96 ^a

a 为 $P<0.05$,与造影组相比。

2.2 造影组和治疗组各组自身静脉血与动脉血中 SOD、MDA 水平比较

介入治疗前造影组、治疗组静脉血中 SOD 水平分别为 45.20 ± 3.13 kU/L、 35.36 ± 3.47 kU/L,动脉血中 SOD 水平分别为 43.20 ± 3.04 kU/L、 34.36 ± 2.97 kU/L,各组自身静脉血与动脉血 SOD 比较差异无统计学意义($P>0.05$;表 3)。介入术前造影组、治疗组静脉血中 MDA 水平分别为 8.10 ± 3.18 nmol/L、 9.17 ± 3.24 nmol/L,动脉血中 MDA 水平分别为 8.17 ± 3.24 nmol/L、 9.27 ± 3.10 nmol/L,自身静脉血与动脉血 MDA 比较差异无统计学意义($P>0.05$;表 4)。治疗组与造影组介入术前动、静脉血中 SOD、MDA 组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$;表 4)。

2.3 治疗组组内动脉血中 SOD 和 MDA 水平

治疗组介入治疗前缺血部位 SOD 水平较介入治疗前动脉血 SOD 水平低,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗组介入治疗后缺血部位 SOD 水平较介入治疗前缺血部位及治疗前动脉血 SOD 均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$;表 3)。治疗组介入治疗前缺血部位 MDA 水平较介入治疗前动脉血 MDA 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);治疗组介入治疗后缺血部位 MDA 水平较介入治疗前缺血部位及治疗前动脉血 MDA 水平均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$;表 4)。

表 3. 两组患者静脉血及动脉血 SOD 水平比较(kU/L)

Table 3. Comparison of SOD in venous blood and arterial blood between the two groups of patients(kU/L)

标本	造影组	治疗组
介入术前静脉血	45.20±3.13	35.36±3.47 ^a
介入术前动脉血	43.20±3.04	34.36±2.97 ^a
介入术前缺血部位动脉血	42.01±3.49	31.30±3.18 ^b
介入术后缺血部位动脉血	42.01±3.49	28.30±2.68 ^{bc}

a 为 $P<0.05$,与造影组比较;b 为 $P<0.05$,与介入术前动静脉血比较;c 为 $P<0.05$,与介入术前缺血部位动脉血比较。

表 4. 两组患者静脉血及动脉血 MDA 水平比较(nmol/L)

Table 4. Comparison of MDA in venous blood and arterial blood between the two groups of patients(nmol/L)

标本	造影组	治疗组
介入术前静脉血	8.10±3.18	9.17±3.24 ^a
介入术前动脉血	8.17±3.24	9.27±3.10 ^a
介入术前缺血部位动脉血	8.25±3.15	10.45±3.18 ^b
介入术后缺血部位动脉血	8.58±3.20	12.58±3.20 ^{bc}

a 为 $P<0.05$,与造影组比较;b 为 $P<0.05$,与术前动静脉血比较;c 为 $P<0.05$,与介入术前缺血部位动脉血比较。

3 讨 论

氧化应激是指机体在各种有害刺激时,体内活性氧(reactive oxygen species,ROS)自由基与抗氧化剂的失衡导致组织损伤的一种状态。机体中存在两种抗氧化体系:一种是酶抗氧化物系统,包括 SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等;另一种是非酶化抗氧化体系,包括维生素 C、维生素 E、 α -硫辛酸、铜、锌、硒等微量元素^[3]。当机体受到内源或外源因素影响时,ROS 的产生和清除之间失衡,机体内 ROS 增多,从而导致机体氧化应激。Brownlee^[4]提出“糖尿病并发症共同机制”学说,认为高血糖所引发的氧化应激对血管内皮细胞的损伤是糖尿病并发症机制中最为关键的一步,无论大血管还是微血管并发症,其发病机制都源于氧化应激^[5]。当下肢动脉狭窄或闭塞时,下肢血供变差,表现为下肢缺血缺氧,从而导致下肢血管内皮的氧化应激损伤。下肢动脉血管狭窄程度越重,缺血越严重,氧化应激反应越强烈。氧化应激的产物丙二醛(MDA)越多,SOD 作为抗氧化应激的氧自由基清除剂就会消耗越多,故而,治疗组动脉血 SOD 低于造影组,MDA 水平高于造影组。对于糖尿病下肢动脉病变的患者,传统药物治疗效果较差,而介入的腔内治疗通过球囊扩张或支架植入使狭窄或闭塞的血管再通,从而改善血供,使患者临床上发冷、麻木、疼痛等缺血症状得到明显缓解,减少了截肢率^[6]。国外也有学者研究证实,对糖尿病下肢动脉病变的患者行介入手术治疗,可以取得较为显著疗效,患者症状可以明显减轻^[7-8]。

介入治疗下肢动脉病变的疗效已得到国内外专家的认可^[9],但术后血管再狭窄仍然是影响其远期疗效的主要因素。术后再狭窄的主要原因是因为球囊扩张、支架植入导致血管壁扩张,内膜出血损伤,从而导致局部氧化应激反应加重,随后多种

细胞因子介导的局部血管的重建,是血管平滑肌迁移、增殖、凋亡及细胞基质堆积的结果^[10]。近年来研究认为新生内膜增生是介入术后再狭窄的主要机制^[11]。内膜增生的抑制在预防增生性血管疾病如再狭窄中起重要作用^[12-13]。由此可见,氧化应激在介入术后血管重建所致再狭窄的过程中发挥重要作用。本研究中,介入治疗时球囊扩张不同程度地使得血管内膜撕裂,激发更为强烈的氧化应激反应,故治疗组介入术后缺血部位 SOD 水平较介入治疗前缺血部位及治疗前动脉血 SOD 均降低,而氧化应激的产物 MDA 升高也证实了这一点。因此,在球囊扩张或支架植入术后于动脉鞘内注入抗氧化剂,减轻新生内膜增生^[14],是否有助于提高介入术后远期疗效,则是一个有待进一步研究的课题。

[参考文献]

- [1] Baumann F, Willenberg T, Do DD, et al. Endovascular revascularization of below-the-knee arteries: Prospective short-term an-giographic and clinical follow-up[J]. Vasc Interv Radiol, 2011, 22(12): 1 665-673.
- [2] Gao C, Yang M, Jing L, et al. Amorphous silica nanoparticles trigger vascular endothelial cell injury through apoptosis and atophagy via reactive oxygen species-mediated MAPK/Bcl-2 and PI3K/Akt/m TOR signaling [J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 5 257-276.
- [3] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, et al. Oxidative stress and antioxidant defense[J]. World Allergy Organ J, 2012, 5(1): 9-19.
- [4] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications-A unifying mechanism[J]. Diabetic, 2005, 54(6): 1 615-625.
- [5] Buchs AE, Kornberg A, Zahavi M, et al. Increased expression of tissue factor and receptor for advanced glycation end products in peripheral blppd mononuclear cells of patients with type2 diabetes mellitus with vascular complications [J]. Exp Diabetes Res, 2004, 5(2): 163-169.
- [6] Çildag MB, Köseoglu ÖFK. The effect of charcot neuroarthropathy on limb preservation in diabetic patients with foot wound and critical limb ischemia after balloon angioplasty [J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 5670 984.
- [7] Tecilazich F, Dinh T, Lyons TE, et al. Postexercise phosphocreatine recovery, an index of mitochondrial oxidative phosphorylation, is reduced in diabetic patients with lower extremity complications[J]. J Vasc Surg, 2013, 57(4): 997-1 005.
- [8] Rubio-Martin E, Soriguer F, Gutierrez-Repiso C, et al. C-reactive protein and incidence of type 2 diabetes in the Pizarra study[J]. Eur J Clin Investigat, 2013, 43(2): 159-167.
- [9] Enzmann FK, Eder SK, Aschacher T, et al. Tibiodistal vein bypass in critical limb ischemia and its role after unsuccessful tibial angioplasty[J]. J Vasc Surg, 2017, pii: S0741-5214(17)32054-2.
- [10] Zhou Y, Zhang MJ, Li BH, et al. PPAR γ inhibits VSMC proliferation and migration via attenuating oxidative stress through upregulating UCP2 [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154 720.
- [11] Chen L1, Zhuang J, Singh S, et al. XAV939 inhibits intima formation by decreasing vascular smooth muscle cell proliferation and migration through blocking Wnt signaling [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2016, 68(6): 414-424.
- [12] Beller CJ, Radovits T, Kosse J, et al. Activation of the peroxynitrite-poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase pathway during neointima proliferation: a new target to prevent restenosis after endarterectomy [J]. J Vasc Surg, 2006, 43: 824-830.
- [13] Zhang J, Chen J, Yang J, et al. Sodium ferulate inhibits neointimal hyperplasia in rat balloon injury model [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87 561.
- [14] Yang B, Gao P, Wu X, et al. Epigallocatechin-3-gallate attenuates neointimal hyperplasia in a rat model of carotid artery injury by inhibition of high mobility group box 1 expression[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(3): 1 975-982.

(此文编辑 许雪梅)