

# 低能量体外震波对糖尿病慢性创面模型血管新生和血管内皮细胞生长因子表达的影响\*\*☆

燕晓宇, 杨光, 成亮, 陈明, 程相国, 柴益民, 罗从风, 曾炳芳

## Effect of low-energy extracorporeal shock wave on the expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in diabetic wound healing

Yan Xiao-yu, Yang Guang, Cheng Liang, Chen Ming, Cheng Xiang-guo, Chai Yi-min, Luo Cong-feng, Zeng Bing-fang

### Abstract

**BACKGROUND:** Extracorporeal shock wave (ESW) as a non-invasive physical stimulation can promote angiogenesis and tissue repair.

**OBJECTIVE:** To observe the effect of low-energy ESW on vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and its role in promoting diabetic wound healing.

**METHODS:** Totally 72 Sprague Dawley rats were randomly divided into treatment, diabetes and control groups. Diabetic chronic wound models were established in the treatment and diabetes groups. The ESW was used for the treatment group at 1 day after modeling, but coupling liquid was used for the diabetes and control groups. Granulation tissue of the wound and formation of new blood vessels were observed. Protein content of VEGF and expression of mRNA were detected.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Compared with the diabetes group, closure rate of the wound in the treatment group was increased. The number of microvessels within the wound was increased in the treatment group at 3 days after treatment than in the diabetes group, and corresponding granulation tissues were increased simultaneously. Compared with the control group, expressions of VEGF protein and mRNA were lower in the diabetic control group at 3 and 7 days after treatment, moreover, declined at 7 days after treatment. After the ESW treatment, the protein content of VEGF and expression of mRNA level were increased at 3, 7, 14 and 21 days after treatment and began to decline at 14 days after treatment. This suggested that the reduced expression level of VEGF and decreased period of its expression can contribute to the impaired healing of diabetic wound. The ESW treatment can increase the expression of VEGF and extend the time of its high expression to promote wound angiogenesis and ultimately accelerate the growth of granulation tissue and diabetic wound healing.

Yan XY, Yang G, Cheng L, Chen M, Cheng XG, Chai YM, Luo CF, Zeng BF. Effect of low-energy extracorporeal shock wave on the expression of vascular endothelial growth factor and angiogenesis in diabetic wound healing. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(15): 2745-2749. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 体外震波作为一种非侵入性的物理刺激近年来发现具有促进新生血管形成、促进组织修复的功能。

**目的:** 观察体外震波对创面内血管内皮细胞生长因子表达和新血管形成的影响及促进创面愈合的作用。

**方法:** 72只SD大鼠随机均分为治疗组、糖尿病组及对照组。治疗组和糖尿病组制作糖尿病慢性创面模型。建模后1d治疗组创面用体外震波处理,糖尿病组和对照组仅涂抹耦合液。观察创面的肉芽组织和新血管形成情况,检测血管内皮细胞生长因子蛋白含量及mRNA的表达水平。

**结果与结论:** 与糖尿病组比较,治疗组创面的闭合率增加。治疗后3d开始,治疗组创面内毛细血管数量比糖尿病组增多,肉芽组织相应增加。与对照组比较,糖尿病组血管内皮细胞生长因子蛋白含量和mRNA表达水平在3d和7d均降低,在7d出现下降。经体外震波治疗后,各时间段表达均增高,在14d出现下降。说明糖尿病创面局部血管内皮细胞生长因子分泌量降低和高表达时段缩短是其难愈的重要因素之一,体外震波治疗可增加糖尿病创面组织内血管内皮细胞生长因子的表达强度,延长其高表达的时间,从而促进创面内新血管形成,最终加快肉芽组织生长和创面愈合。

**关键词:** 体外震波;糖尿病创面;血管内皮细胞生长因子;血管新生;愈合

**缩略语注释:** VEGF: vascular endothelial growth factor, 血管内皮细胞生长因子

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.15.019

燕晓宇, 杨光, 成亮, 陈明, 程相国, 柴益民, 罗从风, 曾炳芳. 低能量体外震波对糖尿病慢性创面模型血管新生和血管内皮细胞生长因子表达的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(15): 2745-2749. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

Department of Orthopedics, the Sixth Affiliated People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Yan Xiao-yu☆, Doctor, Attending physician, Department of Orthopedics, the Sixth Affiliated People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China yanorth@126.com

Corresponding author: Chai Yi-min, Doctor, Chief physician, Department of Orthopedics, the Sixth People's Hospital of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China chaiyimin2000@yahoo.com.cn

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901565\*; Youth Science and Technology of Shanghai Rising Star Program (A class) Project, No. 10QA1405400\*

Received: 2011-12-24 Accepted: 2012-01-13

## 0 引言

糖尿病足创面为临床治疗中的一个难点,它是一种慢性难愈创面,其主要病理机制之一是创面局部微血管形成和功能障碍<sup>[1-2]</sup>,内源性生长因子如血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等表达水平

降低<sup>[3]</sup>。促进创面组织生长因子的表达及新血管形成对创面愈合具有重要的作用。

体外震波作为一种非侵入性的物理刺激已广泛用于治疗多种骨骼肌肉系统疾病,近年来发现具有促进新生血管形成、促进组织修复的功能<sup>[4]</sup>,被认为是一种新兴的促血管新生的方法<sup>[5]</sup>,用于治疗缺血性心肌疾病和肢体缺血疾病的治疗<sup>[6-8]</sup>,但将其用于创面修复的研究甚少。

上海交通大学附属第六人民医院骨科, 上海市 200233

燕晓宇☆, 男, 1975年生, 汉族, 上海市人, 1998年山东医科大学毕业, 博士, 主治医师, 主要从事骨与软组织修复与重建方面的研究。  
yanorth@yahoo.com

通讯作者: 柴益民, 博士, 主任医师, 上海交通大学附属第六人民医院骨科, 上海市 200233  
chaiyimin2000@yahoo.com.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225(2012)15-02745-05

收稿日期: 2011-12-24  
修回日期: 2012-01-13  
(20111224013/D·G)

鉴于体外震波促血管新生的作用, 本实验建立糖尿病大鼠慢性创面模型, 采用低能量体外震波进行治疗, 观察其对糖尿病创面内血管新生的影响并探讨可能的机制, 为将来临床应用提供实验依据。

## 1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2010-12/2011-04在上海市四肢显微外科研究所完成。

材料: 健康雄性SD大鼠72只, 6-8周龄, 体质量(220±20) g, 清洁级, 由中国科学院实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK(沪)2007-0005。饲养环境良好, 温度(22±2) °C, 相对湿度(50±10)%, 光照6:00~18:00, 标准颗粒饲料喂养。实验过程对动物的操作符合医学伦理学标准。

### 主要试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
体外震波治疗仪	OrthospecTM, Medispec Ltd, 以色列
VEGF ELISA 试剂盒	R&D, 美国
CD31 免疫组化试剂盒	武汉博士德生物工程有限公司
SYBR Premix Ex Taq、Real time PCR 仪、Reverse Transcriptase M-MLV	TaKaRa, 日本
TRizol Reagent	Invitrogen, 美国

### 方法:

**糖尿病慢性创面模型的建立:** 大鼠适应性饲养1周后, 随机选取48只禁食12 h(不禁水), 按60 mg/kg的剂量腹腔内注射柠檬酸缓冲液稀释的链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ), 之后自由进食水, 72 h后血糖值高于16.7 mmol/L即认为造模成功<sup>[9]</sup>, 造模不成功者重复上述操作直到造模成功。造模成功后, 继续维持饲养, 每周2次检测血糖和体质量, 血糖一直维持在上述水平以上, 8周后盐酸氯胺酮(100 mg/kg)腹腔内注射麻醉, 常规剃毛消毒。在背部制作圆形皮肤全层创面, 直径为1.8 cm, 面积为2.54 cm<sup>2</sup>, 无菌敷料覆盖, 单笼喂养。

**动物分组及干预:** 造模成功后的48只大鼠随机均分为糖尿病组和治疗组, 另外24只大鼠设为对照组。治疗组于创面治疗后1 d给予低能量体外震波治疗: 将大鼠麻醉, 创面及周缘置于

体外震波治疗仪的焦斑区域内, 并涂抹耦合液以作为传导介质, 采用0.11 mJ/mm<sup>2</sup>、1.5 Hz的能量对创面干预500脉冲, 后拭去耦合液。糖尿病组和对照组仅涂抹耦合液, 未用体外震波治疗。

治疗后第3, 7, 14, 21 天对创面进行大体观察并用数码相机拍照, 记录创面面积, 采集创面及周围2 mm的组织, 用40 g/L多聚甲醛固定, 石蜡包埋连续切片, 常规行苏木精-伊红染色和CD31免疫组织化学染色, 并进行分子生物学检测, 具体方法按照相关试剂盒说明书进行操作, 具体步骤不再赘述。

**创面闭合率:** 将创面照片图像输入计算机, 以Image Pro Plus 6.0 图像分析系统测量创面面积, 计算创面的闭合率:

$$\text{创面闭合率} = \frac{\text{创面初始面积} - \text{创面形成后第 } n \text{ 天的面积}}{\text{创面初始面积}} \times 100\%$$

**组织学观察:** 苏木精-伊红染色切片, 光镜下观察创面的组织学变化, 包括血管生成与分布、肉芽组织的生长等。

**微血管密度的检测:** 光镜下观察CD31免疫组化染色切片, 评价血管形成情况, 具体是高倍镜下每张切片随机计算5个视野中血管断面数目的均值, 以每1 mm<sup>2</sup>毛细血管数目表示微血管密度(MVD)。

**VEGF含量的测定:** 采用ELISA技术测定组织中VEGF的含量, 具体方法按检测按试剂盒中说明书进行操作。

**VEGF mRNA测定:** 使用Real-time PCR 检测创面组织中VEGF mRNA表达。用Trizol法提取组织总RNA, 用反转录酶 Reverse Transcriptase M-MLV进行反转录合成cDNA, 然后以cDNA 为模板, 对目的基因进行实时定量PCR, 检测目的基因的表达量的变化。PCR引物序列: 上游 5'-GTT CGA GGA AAG GGA AAG GGT C-3', 下游 5'-GCG AGT CTG TGT TTT TGC AGG A-3'。通过Ct值进行分析, Ct值是指每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值所经历的循环数, 用相对定量表达样本基因的数量。

$$\Delta \text{Ct} = \text{目的基因 Ct 值} - \text{GAPDH Ct 值};$$

$$\Delta \Delta \text{Ct} = \text{某一标本的 } \Delta \text{Ct} - \text{校正标本的 } \Delta \text{Ct};$$

$$\text{标本目的基因数量的计算公式: } 2^{-\Delta \Delta \text{Ct}}$$

**主要观察指标:** ①创面闭合率。②创面内新生血管的数目。③创面内VEGF mRNA表达及蛋白含量的变化。

**统计学分析:** 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS

13.0统计软件包进行分析。组间比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用t 检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

2.1 实验动物数量分析 41(85%)只大鼠经一次注射STZ后成功制成糖尿病大鼠模型, 余7只经二次注射后造模成功。3组72只大鼠均进入结果分析, 无脱落。

2.2 创面大体观察和创面闭合率 糖尿病组创面炎症反应较明显, 色暗, 肉芽组织形成缓慢。治疗组炎症反应较轻, 肉芽组织生长良好, 收缩明显。在治疗3 d后的不同时间点, 治疗组创面的闭合率均高于糖尿病组( $P < 0.05$ ), 但不及对照组( $P < 0.05$ ), 见表1。

表1 三组创面在不同时间点的闭合率  
Table 1 The closure rate of wound in three groups at different time points ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

Time (d)	Control group	Diabetes group	Treatment group
3	13.42±4.37	-1.45±2.06 <sup>a</sup>	4.18±2.27 <sup>ab</sup>
7	55.05±7.70	13.47±3.01 <sup>a</sup>	30.68±4.47 <sup>ab</sup>
14	89.05±4.17	41.13±5.48 <sup>a</sup>	64.4±5.59 <sup>ab</sup>
21	100.00±0.00	61.92±6.25 <sup>a</sup>	82.84±5.83 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. control group; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , vs. diabetes group

2.3 组织学观察 苏木精-伊红染色显示, 治疗后3 d时糖尿病组肉芽组织形成不良, 微血管较少, 有较多的炎性细胞; 治疗组微血管相对较多, 炎性细胞相对较少, 肉芽组织相对较多。治疗后7 d时, 糖尿病组创面仍有多量中性粒细胞浸润, 体外震波治疗组炎性细胞较少, 成纤维细胞明显增加, 肉芽组织相对较多, 微血管较多, 已具有管腔结构, 见图1。

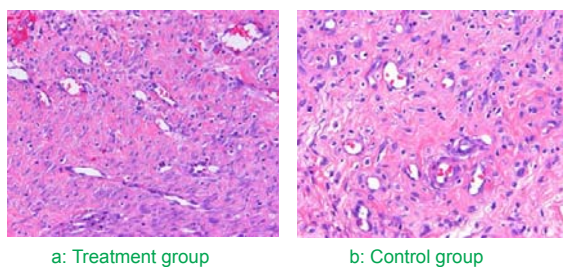


Figure 1 Hematoxylin-eosin staining of wound tissue at 7 d after treatment ( $\times 100$ )  
图1 治疗后7 d时创面组织苏木精-伊红染色( $\times 100$ )

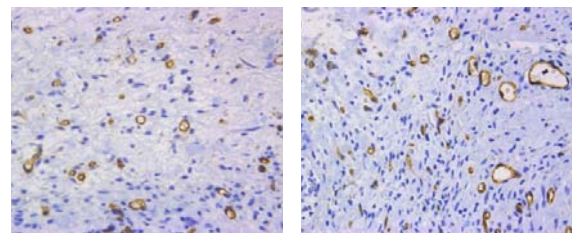
14 d时, 糖尿病组细胞排列紊乱, 血管相对较少, 治疗组肉芽组织致密, 血管相对较多, 具有明显管腔结构的血管相对增多。

2.4 微血管密度 CD31免疫组化染色显示, 在治疗后3, 7, 14 d, 治疗组和对对照组创面中CD31阳性细胞增多明显, 创面血管密度值增加, 见表2, 均明显高于糖尿病组( $P < 0.05$ ), 特别是在7 d时, 治疗组和对对照组血管新生较为明显, 见图2。

表2 治疗不同时间点3组创面内的平均微血管密度  
Table 2 The average microvessel density of the wound in the three groups at different time points ( $\bar{x} \pm s, n/mm^2$ )

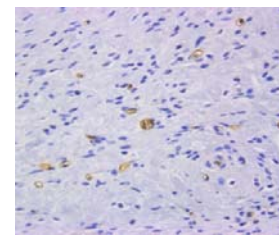
Group	3 d	7 d	14 d
Control	24.25±5.47 <sup>a</sup>	51.69±9.24 <sup>a</sup>	64.25±10.47 <sup>a</sup>
Diabetes	13.53±3.29	27.72±5.71	35.29±6.16
Treatment	22.02±5.78 <sup>a</sup>	47.27±7.52 <sup>a</sup>	58.48±9.55 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , vs. diabetes group



a: Treatment group

b: Control group



c: Diabetes group

Figure 2 CD31 staining of microvessels in the wound tissue at 7 d after treatment ( $\times 100$ )  
图2 治疗后7 d时创面组织CD31染色显示创面组织内血管情况( $\times 100$ )

2.5 创面组织中VEGF蛋白的表达 创面组织中VEGF酶联免疫反应(ELISA)定量分析结果, 见表3。在正常相组创面内, VEGF含量在3d和7d均较高, 在14d明显下降。在糖尿病大鼠创面, 组织中VEGF含量与对照组相比明显降低, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 而且, VEGF含量在7d已经开始下降。治疗组VEGF在各个时间点的含量均较糖尿病组高, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ), 在14 d时出现下降。

表3 治疗术后3, 7, 14 d时创面组织中血管内皮生长因子ELISA分析结果  
Table 3 Content of vascular endothelial growth factor in the wound tissue measured by enzyme linked immunosorbent assay at 3, 7, 14 d after treatment (x±s, µg/g)

Group	3 d	7 d	14 d
Control	51.6±4.6	52.9±4.5	23.3±3.7
Diabetes	29.3±2.3 <sup>a</sup>	18.5±3.1 <sup>a</sup>	13.8±2.4 <sup>a</sup>
Treatment	46.6±3.4 <sup>ab</sup>	45.8±4.7 <sup>ab</sup>	21.2±2.8 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, vs. control group; <sup>b</sup>P < 0.05, vs. diabetes group

## 2.6 创面组织中VEGF mRNA的表达 3组创面VEGF mRNA的表达结果, 见表4。

表4 治疗后3, 7, 14 d时创面组织中VEGF mRNA表达情况  
Table 4 Expression of vascular endothelial growth factor mRNA in the wound tissue at 3, 7, 14 d after treatment (x±s)

Group	3 d	7 d	14 d
Control	0.38±0.05	0.42±0.04	0.18±0.02
Diabetes	0.21±0.02 <sup>a</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.08±0.01 <sup>a</sup>
Treatment	0.34±0.04 <sup>b</sup>	0.38±0.04 <sup>b</sup>	0.16±0.03 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P < 0.05, vs. control group; <sup>b</sup>P < 0.05, vs. diabetes group

与对照组比较, 糖尿病大鼠创面组织中VEGF mRNA表达明显降低, 差异有显著性意义(P < 0.05), 并且在7 d已经明显下降。体外震波治疗后创面内VEGF mRNA表达在3, 7 d均高于糖尿病组, 差异有显著性意义(P < 0.05), 在14 d时明显下降。

## 3 讨论

体外震波在近些年来被用于治疗骨不连和骨坏死, 成为骨科领域一个新兴的研究热点, 最近又被用于治疗缺血性心肌疾病和下肢缺血性疾病<sup>[5-6, 8, 10-11]</sup>, 以促进局部组织血管新生。课题组前期实验显示, 它可增强皮瓣局部组织表达VEGF和内皮型一氧化氮合酶, 促进缺血皮瓣血管扩张和血管新生, 改善局部的血供重建<sup>[12]</sup>, 还可加快糖尿病切口愈合并促进局部组织表达转化生长因子β1<sup>[13]</sup>。基于这些研究, 本实验将其用于糖尿病足慢性创面模型, 探讨其对糖尿病创面VEGF表达和新血管形成及创面修复的影响。

创面修复的重要特征是形成包含有成纤维细胞、胶原和血管的纤维血管组织, 即肉芽组织, 其中, 血管新生对肉芽组织的形成至关重要, 毛细血管的长入可为组织修复和细胞的生长增殖提供重要的氧、营养和调节因子, 促进创面的血管化进程对促进糖尿病慢性创面愈合具有重要意义<sup>[14]</sup>。本实验发现, 体外震波治疗可增加创面内的毛细血管数量, 促进肉芽组织形成, 加快创面的

愈合速度, 提高愈合率。有临床报道, 震波治疗可增加糖尿病足溃疡局部的血流, 并促进其愈合<sup>[15-16]</sup>, 这与本实验的结果一致。

创面的血管化是一个极其复杂但又高度协调的过程, 生长因子发挥了关键性的调控作用, 其中, VEGF是参与血管化调控的主要生长因子<sup>[17]</sup>, 它可触发一系列的修复反应, 能有效地促进血管内皮细胞增殖及迁移, 促进新血管形成。本实验结果显示, 在创面术后相同的时间点, 糖尿病创面内的肉芽组织形成较正常组少, 微血管密度较低, 同时, VEGF蛋白含量和mRNA表达水平明显比正常组低, 另外, 正常创面内VEGF蛋白含量和mRNA表达水平在3 d和7 d均较高, 而糖尿病创面内VEGF蛋白含量和mRNA表达水平在7 d时已经下降, VEGF含量降低与微血管密度之间呈相关性。这提示, 在糖尿病难愈创面, VEGF不仅呈低表达水平, 其表达高峰的持续时间也出现缩短, 这构成创面难愈的重要因素之一。

用体外震波对糖尿病足创面进行治疗发现, 术后3 d时创面组织内VEGF蛋白含量和mRNA表达水平与对糖尿病对照组相比明显增加, 在7 d时仍处于较高水平, 并未出现明显下降, 在14 d时才出现降低。另外, 尽管在3, 7 d时其含量仍未达到正常组水平, 但其分泌增加的持续时间与正常相似。这提示体外震波治疗可在一定程度上扭转糖尿病创面内VEGF表达降低和表达持续时间缩短的局面。该现象对促进糖尿病创面愈合具有重要作用。研究表明, VEGF表达增加可使局部血管扩张<sup>[17]</sup>, 并通过趋化作用促进内皮细胞迁移, 同时可提高血管内皮细胞基底膜的可渗透性, 为血管内皮细胞迁移提供基质, 以便形成毛细血管, 另外, VEGF可减少内皮细胞凋亡, 促进其增殖, 使之参与血管的形成。因此认为, 体外震波作用于创面后, 使VEGF蛋白表达增加和表达时间延长, 通过上述作用机制, 对糖尿病创面的血管新生产生促进作用, 最终促进创面的愈合。

创面内的VEGF由多种细胞分泌, 如内皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞等<sup>[18]</sup>。糖尿病创面VEGF表达降低可能与局部组织细胞特别是内皮细胞等的功能降低有关<sup>[19-20]</sup>。本实验显示创面区域有多种细胞在治疗后3, 7 d表达VEGF明显增加, 其mRNA表达水平升高, 这提示体外震波可在一定程度上增强创面内功能受损细胞的功能, 增强其功能活性, 促进其表达VEGF。然而, 其具体机制目前尚不完全清楚。有研究认为, 体外震波可使细胞产生物理形态、生理和生化等一系列变化, 造成不同的生物效应, 如活化细胞、激活细胞的增殖等<sup>[21-24]</sup>。在糖尿病创面, 体外震波也可促进创面内组织增殖从而促进其愈合<sup>[24]</sup>。因此作者推测, 体外震波作用于局部创面组织后可能激发了组织细胞如内皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞等产生生物学反应, 使VEGF表达

增加, 但还需要进一步研究探讨。

综上所述, 糖尿病慢性创面存在微血管形成障碍、VEGF呈低表达和表达峰时缩短的特点, 体外体外震波治疗不仅可增加创面组织内VEGF的表达量, 还可延长其高表达时间, 增加创面内微血管形成, 促进肉芽组织生长, 最终加快创面的愈合。

**致谢:** 感谢国家自然科学基金及上海市青年科技启明星计划基金的资助, 以及上海市四肢显微外科研究所陈圣宝和郭尚春研究员的无私帮助。

#### 4 参考文献

- [1] Chao CY, Cheing GL. Microvascular dysfunction in diabetic foot disease and ulceration. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25(7):604-614.
- [2] Martin A, Komada MR, et al. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Med Res Rev*. 2003;23(2):117-145.
- [3] Laing T, Hanson R, Chan F, et al. The role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of impaired diabetic wound healing: A novel therapeutic target? *Med Hypotheses*. 2007;69(5):1029-1031.
- [4] Ito K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Extracorporeal shock wave therapy as a new and non-invasive angiogenic strategy. *Tohoku J Exp Med*. 2009;219(1):1-9.
- [5] Ito K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Extracorporeal shock wave therapy for ischemic cardiovascular disorders. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2011;11(5):295-302.
- [6] Sun S, Guo T. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(9):1649-1652.  
孙帅, 郭涛. 急性心肌梗死后猪血清内皮型一氧化氮合酶的表达: 体外低能震波物理能量的影响途径[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(9):1649-1652.
- [7] Tao SM, Guo T, Wang J, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(37):6979-6984.  
陶四明, 郭涛, 王钰, 等. 低能量体外心脏震波对急性心肌梗死后心肌基质金属蛋白酶系统及缺血心肌毛细血管密度的影响[J]. 2010, 14(37): 6979-6984.
- [8] Oi K, Fukumoto Y, Ito K, et al. Extracorporeal shock wave therapy ameliorates hindlimb ischemia in rabbits. *Tohoku J Exp Med*. 2008;214(2):151-158.
- [9] Bae H, Shen M, Maurer P, et al. Clinical experience using Cortoss for treating vertebral compression fractures with vertebroplasty and kyphoplasty: twenty four-month follow-up. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2010;35(20):E1030-1036.
- [10] Ito Y, Ito K, Shiroto T, et al. Cardiac shock wave therapy ameliorates left ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs in vivo. *Coron Artery Dis*. 2010;21(5):304-311.
- [11] Yeh KH, Sheu JJ, Lin YC, et al. Benefit of combined extracorporeal shock wave and bone marrow-derived endothelial progenitor cells in protection against critical limb ischemia in rats. *Crit Care Med*. 2012;40(1):169-177.
- [12] Yan X, Zeng B, Chai Y, et al. Improvement of blood flow, expression of nitric oxide, and vascular endothelial growth factor by low-energy shockwave therapy in random-pattern skin flap model. *Ann Plast Surg*. 2008;61(6):646-653.
- [13] Yang G, Luo C, Yan X, et al. Extracorporeal shock wave treatment improves incisional wound healing in diabetic rats. *Tohoku J Exp Med*. 2011;225(4):285-292.
- [14] Van Slyke P, Alami J, Martin D, et al. Acceleration of diabetic wound healing by an angiotensin peptide mimetic. *Tissue Eng Part A*. 2009;15(6):1269-1280.
- [15] Wang CJ, Wu RW, Yang YJ. Treatment of diabetic foot ulcers: A comparative study of extracorporeal shockwave therapy and hyperbaric oxygen therapy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;92(2):187-193.

- [16] Wang CJ, Kuo YR, Wu RW, et al. Extracorporeal shockwave treatment for chronic diabetic foot ulcers. *J Surg Res*. 2009;1152(1):96-103.
- [17] Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, et al. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *J Surg Res*. 2009;153(2):347-358.
- [18] Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, et al. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol*. 1998;152(6):1445-1452.
- [19] Xu K, Yu FS. Impaired epithelial wound healing and egfr signaling pathways in the corneas of diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(6):3301-3308.
- [20] Khan F, Elhadd TA, Greene SA, et al. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(2):215-220.
- [21] Vetrano M, d'Alessandro F, Torrisi MR, et al. Extracorporeal shock wave therapy promotes cell proliferation and collagen synthesis of primary cultured human tenocytes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011;19(12):2159-2168.
- [22] Wang FS, Wang CJ, Sheen-Chen SM, et al. Superoxide mediates shock wave induction of erk-dependent osteogenic transcription factor (cbfa1) and mesenchymal cell differentiation toward osteoprogenitors. *J Biol Chem*. 2002;277(13):10931-10937.
- [23] Nurzynska D, Di Meglio F, Castaldo C, et al. Shock waves activate in vitro cultured progenitors and precursors of cardiac cell lineages from the human heart. *Ultrasound Med Biol*. 2008;34(2):334-342.
- [24] Yu TC, Liu Y, Tan Y, et al. Shock waves increase t-cell proliferation or il-2 expression by activating p38 map kinase. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2004;36(11):741-748.
- [25] Kuo YR, Wang CT, Wang FS, et al. Extracorporeal shock-wave therapy enhanced wound healing via increasing topical blood perfusion and tissue regeneration in a rat model of stz-induced diabetes. *Wound Repair Regen*. 2009;17(4):522-530.

#### 来自本文课题的更多信息--

**基金声明:** 国家自然科学基金项目(30901565); 上海市青年科技启明星计划(A类)项目(10QA1405400)。

**作者贡献:** 第一作者进行实验设计, 全部作者共同进行实施, 第六作者进行实验评估, 资料收集为第一、二、三作者, 第一作者成文, 第六作者审校, 第一、六作者对文章负责。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理要求:** 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

**本文创新点:** 体外震波治疗是非侵入性治疗方法, 具有安全、经济、易行等特点, 近年来在国外得到迅速开展, 目前被看做是一种新兴的促血管新生的方法, 用于缺血性心肌疾病和肢体缺血性疾病的治疗, 但它用于创面的研究甚少, 在国内尚未见将其用于创面治疗的相关报道。虽然国外已有少数研究报道, 但其促血管新生的效应对糖尿病创面愈合的影响尚不十分明确, 机制也不清楚。