



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

中性粒细胞陷阱网对糖尿病足临床愈合结局的预测价值

杨硕菲, 陈亮, 王浙宇, 薛冠华

引用本文:

杨硕菲, 陈亮, 王浙宇, 薛冠华. 中性粒细胞陷阱网对糖尿病足临床愈合结局的预测价值[J]. 中国临床医学, 2023, 30(1): 24-30.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20230044>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

性别对重症糖尿病足血管病变腔内治疗效果的影响

The impact of gender on severe diabetic foot endovascular interventions

中国临床医学. 2023, 30(1): 44-48 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20230043>

中性粒细胞胞外网状陷阱与多重耐药菌感染对重症肺炎患者预后的影响

Effect of neutrophil extracellular traps and multidrug resistant bacteria infection on prognosis of patients with severe pneumonia

中国临床医学. 2022, 29(6): 921-925 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20221556>

脓毒症患者发生应激性溃疡的危险因素及预后分析

Risk factors and prognosis of stress ulcer in patients with sepsis

中国临床医学. 2022, 29(6): 966-970 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20221269>

血清炎症标志物连续监测联合序贯器官衰竭评分对肺部感染所致脓毒症患者预后的评估价值

Evaluation of the prognosis of pneumonia induced sepsis by continuous detection of serum inflammatory markers combined with sequential organ failure assessment score

中国临床医学. 2021, 28(3): 364-369 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202056>

老年慢性肾脏病3~5期非透析患者心脏瓣膜钙化特点及其与血清骨代谢标志物的相关性

Cardiac valve calcification and its relationship with serum bone turnover markers in elderly patients with stage 3-5 non-dialysis chronic kidney disease

中国临床医学. 2020, 27(4): 639-644 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200580>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20230044

· 糖尿病足防治专题 ·

中性粒细胞陷阱网对糖尿病足临床愈合结局的预测价值



杨硕菲, 陈 亮, 王浙宇, 薛冠华*

上海交通大学医学院附属仁济医院血管外科, 上海 200127

引用本文 杨硕菲, 陈 亮, 王浙宇, 等. 中性粒细胞陷阱网对糖尿病足临床愈合结局的预测价值[J]. 中国临床医学, 2023, 30(1): 24-30. YANG S F, CHEN L, WANG Z Y, et al. Predictive value of neutrophil extracellular traps for clinical healing outcome of diabetic foot ulcer[J]. Chin J Clin Med, 2023, 30(1): 24-30.

[摘要] **目的** 探讨中性粒细胞陷阱网(neutrophil extracellular traps, NETs)标志物对糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer, DFU)临床愈合结局的预测价值及相关性。**方法** 回顾性纳入2019年6月至2021年6月于上海交通大学医学院附属仁济医院血管外科诊治的DFU患者120例,纳入60例非溃疡糖尿病患者及60名健康人群作为对照。收集和分析患者基本信息、合并基础疾病情况、实验室检查数据、溃疡创面测量数据及1年内创面愈合随访信息。检测DFU患者及对照组血液中NETs标志物,收集溃疡组织检测弹性蛋白酶水平。进行体外NETs释放实验验证DFU患者血液微环境能否促进NETs释放。评价NETs标志物与DFU患者1年内溃疡愈合和截肢的相关性及预测价值。**结果** 与非DFU患者相比,DFU患者血液所提取血浆和血小板更容易在体外刺激中性粒细胞释放NETs($P<0.05$)。与健康对照组相比,DFU患者血液中NETs标志物水平显著增高($P<0.05$)。非愈合亚组溃疡组织中弹性蛋白酶水平显著高于愈合亚组,合并感染的DFU患者溃疡组织中弹性蛋白酶水平显著高于非感染患者($P<0.05$)。血清瓜氨酸化H3(citrullinated H3, citH3)水平和溃疡组织弹性蛋白酶水平较高的DFU患者溃疡愈合率显著降低($P<0.05$)。单因素分析和多因素回归模型分析结果显示,血清citH3水平是DFU患者1年内溃疡愈合($OR=0.05$, 95%CI 0.01~1.35, $P=0.005$)或发生截肢事件($OR=1.86$, 95%CI 0.54~7.91, $P=0.02$)的独立影响因素。**结论** DFU溃疡组织局部微环境能够促进中性粒细胞释放NETs,阻碍伤口愈合;NETs标志物升高与DFU愈合延迟和截肢发生密切相关;血清citH3可能成为预测DFU愈合结果的重要标志物。

[关键词] 中性粒细胞陷阱网;糖尿病足;预测价值;创面愈合

[中图分类号] R 246.3 **[文献标志码]** A

Predictive value of neutrophil extracellular traps for clinical healing outcome of diabetic foot ulcer

YANG Shuo-fei, CHEN Liang, WANG Zhe-yu, XUE Guan-hua*

Department of Vascular Surgery, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] **Objective** To explore the correlation of neutrophil extracellular traps(NETs) markers with clinical outcome of diabetic foot ulcer (DFU) and their predictive value. **Methods** A total of 120 patients with DFU treated in Department of Vascular Surgery, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine during June 2019 to June 2016 were retrospectively enrolled in this study. Sixty non-ulcerative diabetic patients and 60 healthy people were enrolled in the control group. Patients' basic information, morbidity, laboratory test data, ulcer wound measurement data and 1-year follow-up information were collected and analyzed. NETs markers were detected in the blood of DFU patients and control group, and ulcerative tissues of DFU were collected for detecting the level of elastase. *In vitro* NETs release experiments were conducted to evaluate whether the microenvironment of DFU patients could promote NETs release. The predictive value of NETs markers with 1-year ulcer healing and amputation rate in DFU patients was also evaluated. **Results** Compared with the blood of non-ulcerative diabetic patients, plasma and platelets extracted from blood DFU patients were more likely to stimulate neutrophil to release NETs *in vitro* ($P<0.05$). Compared with patients in control group, serum levels of NETs markers in DFU patients were significantly increased ($P<0.05$). The level of elastase in ulcer tissue of non-healing group was significantly higher than that of healing group ($P<0.05$), and the level of elastase in ulcer tissue of DFU patients with infection was significantly higher than that of non-infected patients ($P<0.05$). The ulcer healing rate of DFU patients with high serum citH3 level

[收稿日期] 2023-01-19 **[接受日期]** 2023-02-13

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81873526). Supported by General Program of National Natural Science Foundation of China (81873526).

[作者简介] 杨硕菲,博士,主治医师. E-mail: doctor_yangshuofei@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-58752345, E-mail: guanhuaxue@yeah.net

and high ulcer elastase level was significantly lower than that of DFU patients with low serum citH3 level and high ulcer elastase level ($P<0.05$). Univariate analysis and multivariate logistic regression model analysis showed that serum citH3 levels was an independent risk factors of ulcer healing ($OR=0.05$, 95% CI 0.01-1.35, $P=0.005$) or amputation ($OR=1.86$, 95%CI 0.54-7.91) within 1 year in DFU patients. **Conclusions** The local microenvironment of DFU patients can promote the release of NETs from neutrophils and prevent wound healing. Elevated NETs markers were closely associated with delayed wound healing and amputation in DFU patients. Serum citH3 may be an independent marker for predicting the clinical outcome of DFU.

[Key Words] neutrophil extracellular traps; diabetic foot ulcer; predictive value; wound healing

糖尿病患者皮肤伤口愈合能力显著下降,糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer, DFU)最为常见。有研究^[1]显示,25%的糖尿病患者会发生DFU,导致患者截肢甚至死亡,DFU的诊治给患者和社会带来了沉重的经济负担。DFU治疗需要复杂的多学科团队参与,DFU临床预后的预测对于帮助患者理性期待临床治疗效果以及平衡医疗资源卫生经济效益都具有重要的价值和意义。当前,临床上多使用糖尿病溃疡严重程度评分(diabetic ulcer severity score, DUSS)及创面缺血和感染程度评分(wound, ischemia, and foot infection, WIfI)系统来评估DFU严重度及帮助判断临床预后,缺乏有效、简便、易检测的有效分子标志物^[2-3]。

炎症反应是皮肤溃疡愈合过程中的重要特征,中性粒细胞作为重要的炎症细胞在DFU愈合过程中被大量招募聚集到溃疡周围^[4]。当前研究^[5]显示,在肽精氨酸脱亚胺酶4(protein arginine deiminase 4, PAD4)作用下中性粒细胞染色质内组蛋白特定位置精氨酸发生瓜氨酸化,DNA与组蛋白间作用减弱后发生解聚,核包膜和颗粒膜瓦解后向胞外释放,由游离DNA、组蛋白、抗菌肽和颗粒酶组成的网络样结构对细菌进行捕杀,该结构被称为中性粒细胞陷阱网(neutrophil extracellular traps, NETs),NETs与炎症性疾病密切相关。高血糖能够促进中性粒细胞释放NETs,NETs与DFU愈合延迟密切相关^[6-7]。同时,DFU常合并细菌感染,NETs可能在局部抗感染免疫过程中发挥重要作用。研究^[8]显示通过敲除PAD4抑制NETs生成或脱氧核糖核酸酶I(deoxyribonuclease I, DNase I)促进NETs分解能够加快DFU愈合。NETs被报道可作为急性脑卒中、严重烧伤和创伤后脓毒症发生的预后标志物^[9-11]。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究为单中心回顾性、观察性

研究。纳入标准:2019年6月至2021年6月于上海交通大学医学院附属仁济医院血管外科单中心诊治的全部DFU患者;排除标准:在治疗或随访期间出现创伤性截肢或确诊为血栓闭塞性脉管炎、急性动脉栓塞或血栓形成、严重肝肾功能衰竭及恶性肿瘤的患者。收集患者基本信息、合并基础疾病情况、实验室检查数据、溃疡创面测量数据及1年内创面愈合随访信息;手术信息(包括开放或者腔内手术信息),创面干预情况(包括外科清创、VSD吸引、敷料管理等)以及各种截肢事件信息;患者的血液样本和溃疡组织样本。计算每例患者的DUSS和WIfI评分,评分标准参考既往文献^[2-3]。无DFU的糖尿病患者及健康人群纳入对照组。本研究通过上海交通大学医学院附属仁济医院伦理委员会批准(RA-2022-018),所有患者均知情且签署知情同意书。

1.2 DFU多学科综合治疗方案 DFU患者均接受多学科综合治疗,治疗团队由血管外科、内分泌科、手足外科等医护共同组成。患者在治疗前均接受糖尿病足相关宣教。患者入院后首先进行无创检查,包括踝肱指数、血管和创面影像学检查、实验室血液检测,重点评估下肢血供、溃疡创面、合并骨髓炎或周围动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD)及血糖控制情况等。存在下肢动脉缺血患者首选腔内介入治疗,无法通过腔内介入治疗开通血管或不适合进行腔内治疗患者(如碘过敏、严重凝血功能障碍、穿刺点部位存在感染、严重肾功能不全等)也可行动脉取栓、内膜剥脱、旁路转流等开放手术治疗。处理下肢动脉缺血同时进行积极的创面干预,外科清创清除坏死组织,通过负压引流或各类敷料定期换药等协助控制感染、促进新生组织生长,对于较大创面在感染得到有效控制后行皮瓣移植。根据创面细菌培养结果选择敏感抗生素,一般使用至创面感染完全控制(感染炎症指标降至正常、创面培养至少连续

2次阴性、局部组织没有红肿渗出)。在内分泌科医生指导下严格控制血糖,出院后每周进行随访及创面管理,对尚未完全愈合的创面进行定期换药及随访检查。

1.3 NETs标志物检测 收集所有患者血液样本进行血清标志物检测,在DFU清创过程中收集溃疡组织行弹性蛋白酶(Elastase)水平检测。NETs血清标志物主要包括核小体(nucleosomes)、瓜氨酸化H3(citrullinated H3, citH3)、细胞外DNA(cell-free DNA, cfDNA)。核小体水平使用Cell Death Detection ELISAPLUS试剂盒(罗氏,西班牙)进行检测。citH3水平检测参考以往文献^[12]描述,使用生物素化的小鼠抗组蛋白抗体(Abcam,英国)及链霉亲和素包被96孔板进行血样混合,加入兔组蛋白3抗体(Abcam,英国),加入连接过氧化物酶二抗,定量数值采用相对于对照组样本的光密度比值。cfDNA浓度使用Qubit 2.0 Fluorometer(Thermo Fisher Scientific,美国)进行定量检测。弹性蛋白酶水平采用ELISA试剂盒水平检测(碧云天,中国)。

1.4 体外NETs释放实验 健康人群中分离 1×10^6 纯化的中性粒细胞在5% CO₂、37℃下孵育3 h,血浆刺激实验中,使用从DFU患者或对照组人群中提取6%无血小板血浆刺激3 h,血小板刺激实验中,使用从DFU患者或对照组人群提取血小板1:50刺激3 h。使用髓过氧化物酶-DNA(myeloperoxidase-DNA, MPO-DNA)复合物作为ELISA定量检测NETs释放的标志物。5 μg/mL抗MPO单抗(Abcam,英国)包被96孔板(1:500稀释至50 μL)4℃过夜。20 μL样品加入80 μL过氧化物酶标记的抗DNA单抗(Cell Death ELISAPLUS试剂盒,1:25稀释,罗氏,西班牙),室温下300 r/min震荡孵育2 h,加入100 μL过氧化物酶底物,孵育20 min后测定405 nm波长光密度,可溶性NET形成数量用相对于对照组的光密度增加比率表示。

1.5 统计学处理 采用SPSS 21.0进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合的以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用Wilcoxon秩和检验,计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验或调整后的 χ^2 检验。采用logistic回归模型检验混杂因素与伤口愈合或

重大截肢之间的关系。采用Spearman相关性检验分析DUSS、WIFI评分、核小体、citH3和cfDNA之间的相关性。构建Kaplan-Meier曲线以确定伤口愈合和截肢率的差异。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 一般资料分析 结果(表1)显示:DFU组120例,年龄(60.5 ± 9.9)岁,男性56例;无DFU组60例,年龄(61.1 ± 11.5)岁,男性27例;健康对照组60例,年龄(57.9 ± 9.6)岁,男性24例。周围动脉疾病(77.5%)和高血压(51.7%)是本研究DFU患者最常见的合并症,85.8%的DFU患者接受了腔内介入治疗。溃疡面积为(14.6 ± 4.7) cm²,溃疡深度(0.9 ± 0.3) cm,85.8%的DFU合并感染,DUSS评分为 2.7 ± 1.1 ,WIFI评分为 2.2 ± 1.4 。

表1 患者基本信息、临床资料和溃疡创面数据

指标	n(%)		
	DFU组 (n=120)	非DFU组 (n=60)	健康对照组 (n=60)
年龄/岁	60.52±9.90	61.11±11.52	57.91±9.60
男性	56 (46.67)	27 (45.00)	24 (40.00)
合并症			
高血压	62 (51.67)	29 (48.30)	-
高脂血症	46 (38.33)	20 (33.30)	-
冠心病	38 (31.67)	17 (28.30)	-
心力衰竭	4 (3.33)	1 (1.70)	-
周围动脉疾病	93 (77.50)	10 (16.70)	-
慢性肾病	4 (3.33)	1 (1.70)	-
脑卒中	4 (3.33)	2 (3.30)	-
吸烟	31 (25.83)	16 (26.70)	6 (10.0)
用药情况			
阿司匹林	81 (67.50)	40 (66.70)	-
氯吡格雷	58 (48.33)	27 (45.00)	-
华法林或其他 抗凝药	12 (10.00)	6 (10.00)	-
他汀类药物	72 (60.00)	34 (56.70)	-
血糖控制方案			
口服药物	26 (21.67)	30 (50.00)	-
胰岛素注射	34 (28.33)	30 (50.00)	-
创面面积/cm ²	14.60±4.67	-	-
创面深度/cm	0.90±0.33	-	-
合并感染	67 (55.83)	-	-
血管开通方式			
腔内介入	83 (69.17)	-	-
开放手术	10 (8.33)	-	-
DUSS评分	2.71±1.13	-	-
WIFI评分	2.21±1.42	-	-

2.2 DFU局部微环境易导致中性粒细胞释放 NETs 结果 (图 1) 显示, 与非 DFU 组的血液相比,

DFU 组的血液所提取血浆和血小板更加容易在体外刺激中性粒细胞释放 NETs ($P<0.05$)。

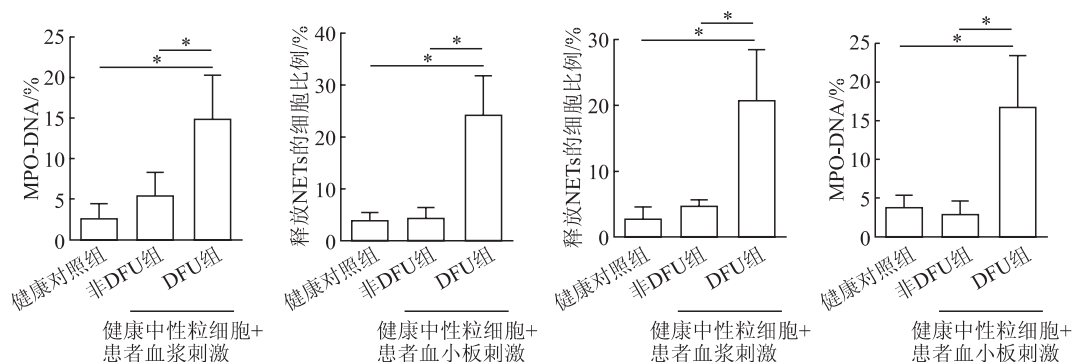


图 1 DFU 局部微环境易导致中性粒细胞释放 NETs

* $P<0.05$ 。

2.3 过量 NETs 释放与 DFU 创面愈合延迟相关 结果 (图 2) 显示, 与健康对照组及非 DFU 组相比, DFU 组血液中 NETs 标志物 (citH3、cfDNA、nucleosomes) 水平显著增高 (图 2A, $P<0.05$)。DFU 组血液中 NETs 标志物水平与 DUSS 及 Wifi 评分正相关 (图 2B, $r>0.80$, $P<$

0.05)。将 DFU 患者分为愈合亚组 (发病 1 年内完全愈合) 和非愈合亚组 (发病 1 年内未完全愈合), 非愈合亚组溃疡组织中弹性蛋白酶水平显著高于愈合亚组, 合并感染的 DFU 患者溃疡组织中弹性蛋白酶水平显著高于非感染患者 (图 2C, $P<0.05$)。

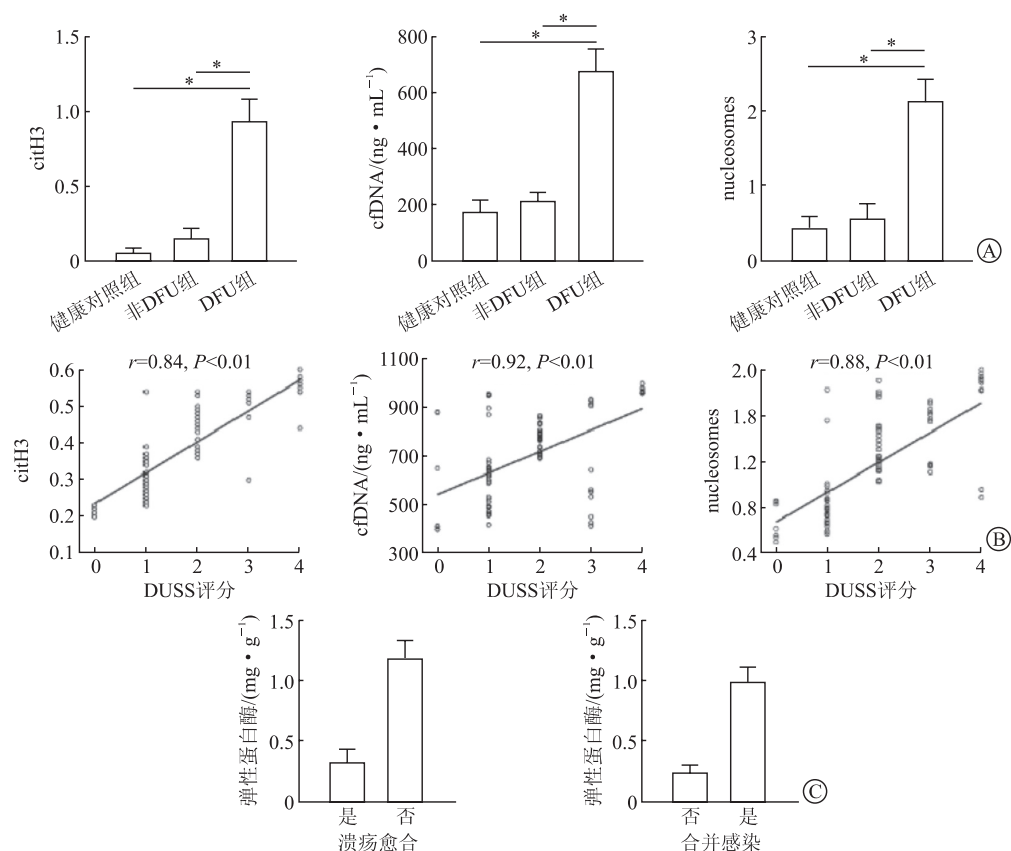


图 2 过量 NETs 释放与 DFU 创面愈合延迟相关性分析

A: DFU 组与非 DFU 组血液中 NETs 标志物对比; B: DFU 组血液中 NETs 标志物水平与 DUSS 及 Wifi 评分相关性分析; C: DFU 组患者溃疡组织弹性蛋白酶水平愈合、感染相关性分析。* $P<0.05$ 。

本研究中DFU患者整体1年愈合率为75.0%，截肢率为15.8%。按照血清citH3水平进行四等分分级，经分析发现血清citH3水平位于前25%的DFU患者溃疡愈合概率显著高于血清citH3水平位于后75%的DFU患者(图3A, $P<0.05$)。

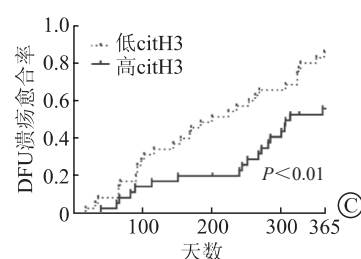
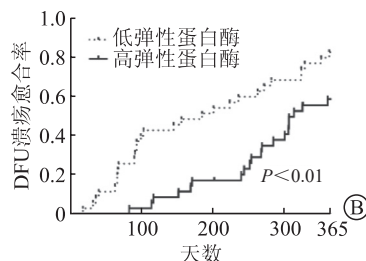
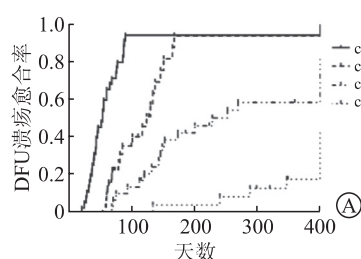


图3 NETs标志物水平升高可导致溃疡愈合受阻

2.4 NETs是DFU愈合和截肢的独立危险因素 结果(表2)显示,单因素分析结果中,合并周围动脉疾病、DUSS评分、Wifl评分、血清citH3、cfDNA、nucleosomes水平、组织弹性蛋白酶水平均是溃疡1年内是否愈合的预测因素;合并DUSS评分、Wifl评分、血清citH3、cfDNA、

nucleosomes水平均是1年内发生截肢事件的预测因素。多因素逻辑回归模型分析结果中,血清citH3水平是DFU患者1年内溃疡愈合($OR=0.05$, 95%CI 0.01~1.35, $P=0.005$)或发生截肢事件($OR=1.86$, 95%CI 0.54~7.91, $P=0.02$)的独立影响因素。

表2 患者1年内溃疡愈合和截肢事件的独立危险因素分析

指标	创面愈合				截肢事件			
	单因素分析		多因素分析		单因素分析		多因素分析	
	OR (95%CI)	P值	OR (95%CI)	P值	OR (95%CI)	P值	OR (95%CI)	P值
溃疡面积	0.98 (0.91~1.35)	0.31			0.97 (0.56~1.14)	0.12		
溃疡深度	0.91 (1.04~2.46)	0.16			0.65 (0.70~1.06)	0.65		
合并周围动脉疾病	0.19 (0.07~0.93)	0.01	0.54 (0.09~2.19)	0.36	0.86 (0.07~1.02)	0.08		
合并感染	0.10 (0.06~0.20)	0.64			0.88 (0.05~0.99)	0.12		
DUSS评分	0.31 (0.19~0.53)	<0.01	2.31 (0.56~3.96)	0.45	2.43 (5.34~8.92)	<0.01	1.98 (0.76~4.39)	0.34
Wifl评分	0.45 (0.15~0.94)	<0.01	2.16 (0.43~4.15)	0.17	3.33 (1.31~7.88)	<0.01	1.66 (0.48~8.87)	0.45
血清citH3	0.10 (0.03~0.38)	<0.01	0.05 (0.01~1.35)	0.005	0.67 (0.78~3.21)	<0.01	1.86 (0.54~7.91)	0.02
血清cfDNA	1.02 (0.80~1.23)	<0.01	0.35 (0.02~3.98)	0.73	1.18 (0.56~1.43)	<0.01	2.43 (0.79~2.25)	0.79
血清nucleosomes	0.05 (0.04~0.34)	<0.01	0.43 (0.05~4.51)	0.35	2.44 (1.05~5.77)	0.04	0.79 (0.05~10.7)	0.38
组织弹性蛋白酶	0.03 (0.02~0.14)	<0.01	0.30 (0.09~0.69)	0.09	3.19 (0.41~9.90)	0.17		

3 讨论

DFU愈合延迟的主要原因包括局部组织缺血、神经病变导致疼痛缺失、感染无法有效控制等,完善的多学科诊治团队是治疗成功的保证^[13]。当前研究^[14]显示,Wifl评分是预测DFU愈合结果的独立因素。但Wifl评分需要对患者的基线情况和溃疡特征作详细了解,评估较为繁琐,临床上迫切需要简便易测的能够帮助判断和预测截肢风险的血清学标志物。本研究首次证明了NETs相关标

志物是预测DFU预后的重要标志物。在中性粒细胞释放NETs前,中性粒细胞内PAD4导致组蛋白3发生瓜氨酸化,因此citH3是NETs形成的特异性指标,被广泛用于NETs形成的检测。研究^[9,15]显示,血液中citH3能够被用作急性脑卒中和肺炎治疗的预后标志物的血清学标志物。本研究结果显示,citH3水平是预测DFU创面愈合延迟和截肢发生的独立影响因素。

由于对糖尿病创面愈合延迟机制研究的缺乏,目前临床缺乏能够有效促进DFU早期愈合的药物。

DFU创面中过量的NETs形成并与溃疡严重程度密切相关的具体机制尚未得到深入研究。NETs最初被发现时主要与抗细菌感染免疫相关,在DFU中NETs可能引起组织损伤和炎症因子风暴^[16]。NETs形成与降解的平衡是正常组织损伤后修复的保证,而DFU中NETs的过量生成导致创面愈合的受阻^[17]。NETs还可导致凝血和纤溶障碍,由于局部微循环灌注的障碍,可能也是溃疡愈合延迟的重要原因。本研究发现DFU患者血液中提取的血浆和血小板可在体外刺激正常中性粒细胞释放NETs,其诱导的血栓形成可参与急性心梗的发生^[18]。目前尚缺乏直接证据支持NETs导致微血栓参与DFU局部微循环障碍的发生。过量的NETs还可导致皮肤角化细胞中毒受损^[19]。NETs还能够促进巨噬细胞释放大量炎症介质,导致组织损伤。NETs形成使促炎信号持续释放,阻断巨噬细胞吞噬凋亡的中性粒细胞释放的组织修复信号^[20]。

DFU患者常合并有PAD, PAD是导致DFU发生以及愈合延迟的重要因素^[21]。DFU患者均应筛查是否合并PAD,事实上,DFU患者的各类心血管不良事件发生率均显著高于糖尿病非皮肤溃疡患者。PAD的严重程度决定了DFU患者最终结局是愈合、截肢甚至死亡^[22]。感染是影响DFU愈合的另一项重要因素,DFU感染发生率为35%~50%^[23]。本研究发现合并感染DFU患者的NETs水平显著高于非感染患者。

本研究存在诸多局限性:(1)为单中心回顾性研究,所有数据均来自同一个中心;(2)纳入本研究的患者存在偏倚,缺乏长期稳定的随访;(3)持续的追踪检测和临床观察有助于加深对NETs参与DFU溃疡愈合延迟机制的理解,但本研究并未深入探讨NETs导致溃疡组织微循环障碍或组织修复功能障碍的具体机制;(4)尽管本研究进行了单因素基础上的多因素模型分析,但纳入的影响因素有限,尚无法排除很多混杂因素的影响。未来需要设计前瞻性多中心研究来验证NETs能否帮助预测DFU治疗的预后。同时设计对照研究验证NETs升高是否与其他非DFU类型的重症肢体缺血相关。

综上所述,本研究显示NETs标志物升高与DFU愈合延迟和截肢发生密切相关。血清citH3

可能成为预测DFU愈合结果的重要标志物。DFU溃疡组织局部微环境能够促进中性粒细胞释放NETs,阻碍伤口愈合。因此,抑制NETs释放可能为开发促进DFU创面愈合的药物治疗措施提供新思路和新靶点。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] JEFFCOATE W J, VILEIKYTE L, BOYKO E J, et al. Current challenges and opportunities in the prevention and management of diabetic foot ulcers[J]. *Diabetes Care*, 2018, 41(4): 645-652.
- [2] BECKERT S, WITTE M, WICKE C, et al. A new wound-based severity score for diabetic foot ulcers: a prospective analysis of 1, 000 patients[J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(5): 988-992.
- [3] WEAVER M L, HICKS C W, CANNER J K, et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) classification system predicts wound healing better than direct angiosome perfusion in diabetic foot wounds[J]. *J Vasc Surg*, 2018, 68(5): 1473-1481.
- [4] MARTIN P, LEIBOVICH S J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly[J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15(11): 599-607.
- [5] BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [6] MENEGAZZO L, CICILIOT S, PONCINA N, et al. NETosis is induced by high glucose and associated with type 2 diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2015, 52(3): 497-503.
- [7] WONG S L, DEMERS M, MARTINOD K, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing[J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 815-819.
- [8] YANG S F, WANG S S, CHEN L, et al. Neutrophil extracellular traps delay diabetic wound healing by inducing endothelial-to-mesenchymal transition via the hippo pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(1): 347-361.
- [9] VALLÉS J, LAGO A, SANTOS M T, et al. Neutrophil extracellular traps are increased in patients with acute ischemic stroke: prognostic significance[J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(10): 1919-1929.
- [10] ALTRICHTER J, ZEDLER S, KRAFT R, et al. Neutrophil-derived circulating free DNA (cf-DNA/NETs), a potential prognostic marker for mortality

- in patients with severe burn injury[J]. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 2010, 36(6): 551-557.
- [11] MARGRAF S, LÖGTERS T, REIPEN J, et al. Neutrophil-derived circulating free DNA (cf-DNA/NETs): a potential prognostic marker for posttraumatic development of inflammatory second hit and sepsis[J]. *Shock*, 2008, 30(4): 352-358.
- [12] BORISSOFF J I, JOOSEN I A, VERSTEYLEN M O, et al. Elevated levels of circulating DNA and chromatin are independently associated with severe coronary atherosclerosis and a prothrombotic state[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(8): 2032-2040.
- [13] FALANGA V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot[J]. *Lancet*, 2005, 366(9498): 1736-1743.
- [14] MATHIOUDAKIS N, HICKS C W, CANNER J K, et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) classification system predicts wound healing but not major amputation in patients with diabetic foot ulcers treated in a multidisciplinary setting[J]. *J Vasc Surg*, 2017, 65(6): 1698-1705.e1.
- [15] EBRAHIMI F, GIAGLIS S, HAHN S, et al. Markers of neutrophil extracellular traps predict adverse outcome in community-acquired pneumonia: secondary analysis of a randomised controlled trial[J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(4): 1701389.
- [16] MARTINOD K, FUCHS T A, ZITOMERSKY N L, et al. PAD4-deficiency does not affect bacteremia in polymicrobial sepsis and ameliorates endotoxemic shock[J]. *Blood*, 2015, 125(12): 1948-1956.
- [17] FADINI G P, MENEGAZZO L, RIGATO M, et al. NETosis delays diabetic wound healing in mice and humans[J]. *Diabetes*, 2016, 65(4): 1061-1071.
- [18] STAKOS D A, KAMBAS K, KONSTANTINIDIS T, et al. Expression of functional tissue factor by neutrophil extracellular traps in culprit artery of acute myocardial infarction[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(22): 1405-1414.
- [19] BRANZK N, LUBOJEMSKA A, HARDISON S E, et al. Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(11): 1017-1025.
- [20] MANTOVANI A, CASSATELLA M A, COSTANTINI C, et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(8): 519-531.
- [21] TUTTOLOMONDO A, MAIDA C, PINTO A. Diabetic foot syndrome as a possible cardiovascular marker in diabetic patients[J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 268390.
- [22] BRECHOW A, SLESACZECK T, MÜNCH D, et al. Improving major amputation rates in the multi complex diabetic foot patient: focus on the severity of peripheral arterial disease[J]. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 2013, 4(3): 83-94.
- [23] PROMPERS L, HUIJBERTS M, APELQVIST J, et al. High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study[J]. *Diabetologia*, 2007, 50(1): 18-25.

[本文编辑] 翟铨铨