

重组人表皮生长因子联合硫辛酸治疗糖尿病足的临床观察

张祥运^{1*}, 丁晓斌², 林秀峰¹, 杨平¹, 林凯¹ (1. 四川省医学科学院/四川省人民医院城东病区胃肠烧伤科, 成都 610000; 2. 西南医科大学附属医院整形烧伤科, 四川泸州 646000)

中图分类号 R587.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)29-4147-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.29.38

摘要 目的: 考察重组人表皮生长因子(rhEGF)联合硫辛酸对糖尿病足患者的临床疗效及安全性。方法: 选取68例糖尿病足患者按照随机数字表法分为观察组和对照组, 各34例。两组患者均给以基础治疗和硫辛酸注射液0.6 ml加入0.9%氯化钠注射液250 ml, ivgtt(避光), qd; 观察组患者在此基础上给予 rhEGF外用溶液1 ml均匀喷洒创面, 给予凡士林涂抹创面, 用医用干纱布包扎, qd。两组患者疗程均为7 d。比较两组患者的临床疗效、溃疡面积、B淋巴细胞淋巴瘤基因2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达水平, 以及不良反应发生情况。结果: 观察组患者总有效率(94.1%)明显高于对照组(67.6%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗前, 两组患者溃疡面积、Bcl-2和Bax水平比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后, 两组患者溃疡面积均明显缩小, Bcl-2水平较治疗前均明显升高, Bax水平明显降低, 且观察组患者的改善程度明显大于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: rhEGF联合硫辛酸治疗糖尿病足临床疗效较好, 且完全性较好。

关键词 重组人表皮生长因子; 硫辛酸; 糖尿病足; 创面愈合; 疗效

Clinical Observation of Recombinant Human Epidermal Growth Factor Combined with Lipoic Acid in the Treatment of Diabetic Foot

ZHANG Xiangyun¹, DING Xiaobin², LIN Xiufeng¹, YANG Ping¹, LIN Kai¹ (1. Dept. of Gastrointestinal and Burn, Chengdong Ward, Sichuan Academy of Medical Science/Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610000, China; 2. Dept. of Plastic and Burn, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the clinical efficacy and safety of recombinant human epidermal growth factor (rhEGF) combined with lipoic acid in the treatment of diabetic foot. METHODS: A total of 68 patients with diabetic foot were randomly divided into observation group and control group with 34 cases in each group. Both groups were given conventional therapy and Lipoic acid injection 0.6 ml added into Sodium chloride injection 250 ml. ivgtt (protecting form light), qd; observation group was additionally given rhEGF for external use 1 ml and vaseline on the wounds, gauze dressing, qd. Treatment course of 2 groups lasted for 7 d. Clinical efficacy, ulcer area, the expression of Bcl-2 and Bax were compared between 2 groups as well as the occurrence of ADR. RESULTS: The total effective rate of observation group (94.1%) was significantly higher than that of control group (67.6%), with statistical significance ($P < 0.05$). Before treatment, there was no statistical significance in ulcer area, the levels of Bcl-2 and Bax between 2 groups ($P > 0.05$). After treatment, ulcer area decreased significantly, the level of Bcl-2 increased significantly in 2 groups, while the level of Bax decreased significantly; the improvement of observation group was more significant than that of control group, with statistical significance ($P < 0.05$). There was no statistical significance in the incidence of ADR between 2 groups ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: rhEGF combined with lipoic acid is effective for diabetic foot with good safety.

KEYWORDS Recombinant human epidermal growth factor; Lipoic acid; Diabetic foot; Wound healing; Efficacy

- 2013,8(11):78 657.
- [2] Fuller DG, Potts K, Kim J. Noninvasive tear breakup times and ocular surface disease[J]. *Optom Vis Sci*, 2013, 90(10): 1 086.
- [3] 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识: 2013[J]. *中华眼科杂志*, 2013, 49(1): 73.
- [4] Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(4): 1 930.
- [5] 李东辉, 龙琴, 卞爱玲, 等. 普拉洛芬滴眼液治疗中重度干眼的随机对照研究[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(5): 445.
- [6] Walters TR, Goldberg DF, Peace JH, et al. Bromfenacophthalmic solution 0.07% dosed once daily for cataract surgery: results of 2 randomized controlled trials[J]. *Ophthalmology*, 2014, 121(1): 25.
- [7] 王伟鹏. 普拉洛芬滴眼液治疗干眼症疗效观察[J]. *国际眼科杂志*, 2012, 12(11): 2 231.
- [8] 高战涛. 玻璃酸钠滴眼液联合氟米龙滴眼液治疗干眼症的临床研究[J]. *药物与临床*, 2011, 18(28): 59.
- [9] Jiang Y, Ye H, Xu J. Noninvasive Keratograph assessment of tear film break-up time and location in patients with age-related cataracts and dry eye syndrome[J]. *J Int Med Res*, 2014, 42(2): 494.
- [10] 刘澍, 马楠, 王首雁, 等. 溴芬酸钠滴眼液联合人工泪液对干眼白内障患者超声乳化术后泪膜的影响[J]. *中华临床医师杂志*, 2015, 9(2): 238.

* 主治医师, 硕士。研究方向: 创面修复。电话: 028-88424477。E-mail: zxy780502@163.com

(收稿日期: 2015-12-15 修回日期: 2016-04-26)
(编辑: 黄 欢)

糖尿病患者因周围神经病变与外周血管疾病合并过高的机械压力,可引起足部软组织及骨关节系统的破坏与畸形形成,进而引发一系列的足部问题,从轻度的神经症状到严重的溃疡、感染、血管疾病、关节病和神经病理性骨折等。我国糖尿病足的发病率高达12%^[1],足部溃疡患者近40%的病因为糖尿病,糖尿病患者出现足部溃疡等症的风险为非糖尿病者的15~40倍^[2]。临床尚无特异性的糖尿病足治疗方法,约50%的患者在3年内复发,临床的研究重点为寻找高效、安全和可靠的糖尿病足治疗方法。伤口愈合分为机体对伤口的反应及调整愈合活动过程的炎性阶段、机体所在环境及组织再生的增生阶段、变硬及形成疤痕组织的变异阶段,3个阶段相互交错却连续发生。生长因子是影响伤口愈合的可溶性信号蛋白,在炎症反应期清除坏死细胞和细胞外基质残片,并促进表皮细胞、纤维母细胞、内皮细胞增殖,在金属蛋白酶作用下胶原降解,使疤痕减少变平,故生长因子的表达水平直接影响糖尿病足患者的预后^[3]。表皮生长因子(EGF)是一种多功能的生长因子,在体内外对多种组织细胞有极强的促分裂作用,其利用基因重组技术制成,有良好的应用前景^[4]。本研究考察了重组人表皮生长因子(rhEGF)联合硫酸对糖尿病足患者的临床疗效及安全性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准:(1)符合世界卫生组织(WHO)1996年制定的《糖尿病足诊断标准》^[5];(2)年龄≥18岁;(3)患者均知情同意并签署知情同意书。

排除标准:(1)1型糖尿病患者;(2)非糖尿病所致的足部溃疡者;(3)伴严重心、肾、肺等疾病者;(4)对本研究药物过敏者;(5)妊娠及哺乳期妇女。

1.2 研究对象

本研究方案经医院医学伦理委员会审核通过后,选取2012年8月—2015年8月于四川省人民医院就诊的糖尿病足患者68例,按照随机数字表法分为观察组和对照组,各34例。其中,观察组患者男性19例,女性15例;年龄47~72岁,平均(64.04±4.52)岁;体质量指数(BMI)22.3~30.0 kg/m²,平均(26.87±3.34)kg/m²;病程4~16年,平均(7.25±2.91)年;溃疡面积10.0~14.2 cm²,平均(11.22±1.93)cm²;参照糖尿病足Wagner分级^[5]为I级11例,II级15例,III级6例,IV级2例。对照组患者男性21例,女性13例;年龄45~78岁,平均(63.84±4.77)岁;BMI 22.8~31.2 kg/m²,平均(26.34±2.47)kg/m²;病程3~18年,平均(7.13±2.88)年;溃疡面积9.1~13.5 cm²,平均(11.05±1.75)cm²;Wagner分级为I级14例,II级16例,III级3例,IV级1例。两组患者的性别比、年龄、BMI、病程、溃疡面积和Wagner分级等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.3 治疗方法

两组患者均给予常规降糖(控制患者空腹血糖<9.0 mmol/L,餐后2 h血糖<11.1 mmol/L)、抗感染(根据患者药敏试验和病原菌培养结果选择抗菌药物)、改善血液循环(高压氧、血管扩张药或微循环改善剂)和营养神经(甲钴胺片等)的基础治疗,同时给予硫酸注射液(亚宝药业集团股份有限公司,批准文号:国药准字H20055869,规格:6 ml:0.15 g)0.6 ml加入0.9%氯化钠注射液250 ml,ivgtt(避光),qd。观察组患者在此基础上给予rhEGF外用溶液(深圳市华生元基因工程发展有限公司,批准文号:国药准字S20010037,规格:2 000 IU/ml,5 ml/瓶)1 ml均匀喷洒创面,给予白凡士林(南昌白云药

业有限公司,批准文号:赣食药准字F20050006,规格:500 g)均匀涂抹创面,用医用干纱布包扎,qd。两组患者疗程均为2周。

1.4 疗效判定标准及观察指标

(1)比较两组患者的临床疗效,评价标准参照《糖尿病足诊治指南》^[6]:痊愈为溃疡面、坏疽面消失,疤痕或痂皮形成;好转为创面分泌物减少,坏死组织基本脱落,溃疡面积缩小,可见肉芽新生;无效为溃疡面积扩大或未见缩小,分泌物未见减少,或局部恶化。总有效=痊愈+好转。(2)比较两组患者溃疡面积,参照姜小飞等^[7]的糖尿病足溃疡面积计算方法,根据创面形状计算面积,矩形面积=长×宽,类圆形、类椭圆形和类三角形则分别取其外切矩形面积的75%、85%和50%计算。(3)采用免疫组化(SP)法检测两组患者创面中央部位肉芽组织中的B淋巴细胞瘤基因2(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达水平,Bcl-2抗体、Bax抗体和试剂盒均购自美国Santacruz公司,染色后将胞浆/胞核着棕色者作为阳性染色,磷酸缓冲盐溶液(PBS)作阴性对照,于400倍光学显微镜下随机选择5个视野,计算阳性细胞数/总细胞数(%)。

1.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较

观察组患者总有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者临床疗效比较见表1。

表1 两组患者临床疗效比较[例(%)]

Tab 1 Comparison of clinical efficacies between 2 groups [case(%)]

组别	<i>n</i>	痊愈	好转	无效	总有效
观察组	34	15(44.1)	17(50.0)	2(5.9)	32(94.1)
对照组	34	8(23.5)	15(44.1)	11(32.4)	23(67.6)
χ^2					7.703
<i>P</i>					<0.05

2.2 两组患者溃疡面积比较

治疗前,两组患者溃疡面积比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,两组患者溃疡面积均明显缩小,且观察组患者溃疡面积缩小程度明显大于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组患者治疗前后溃疡面积比较见表2。

表2 两组患者治疗前后溃疡面积比较($\bar{x} \pm s, \text{cm}^2$)

Tab 2 Comparison of ulcer area between 2 groups before and after treatment($\bar{x} \pm s, \text{cm}^2$)

组别	<i>n</i>	溃疡面积		
		治疗前	治疗后	差值
观察组	34	11.03±1.75	2.74±1.02**	8.14±0.64*
对照组	34	11.11±1.82	4.97±1.26*	6.20±0.55

注:与治疗前比较,* $P<0.05$;与对照组比较,** $P<0.05$

Note: vs. before treatment, * $P<0.05$; vs. control group, ** $P<0.05$

2.3 两组患者创面凋亡基因表达水平比较

治疗前,两组患者Bcl-2、Bax比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。治疗后2周,两组患者Bcl-2水平较治疗前均明显升高,Bax水平明显降低,且观察组患者的改善程度明显优于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。治疗后3周,两组患者Bcl-2水平较治疗前和治疗后2周均明显升高,Bax水平明显降低,且观察组患者的改善程度明显大于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组患者治疗前后创面凋亡基因表达水平比较见表3。

表3 两组患者治疗前后创面凋亡基因表达水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)Tab 3 Comparison of the expression of wound apoptotic gene between 2 groups before and after treatment($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	Bcl-2			Bax		
		治疗前	治疗后2周	治疗后3周	治疗前	治疗后2周	治疗后3周
观察组	34	3.15 ± 1.16	6.77 ± 3.97 ^{*Δ}	13.51 ± 6.74 ^{**Δ}	15.84 ± 7.21	10.69 ± 6.10 ^{*Δ}	7.31 ± 4.77 ^{**Δ}
对照组	34	3.12 ± 1.21	5.45 ± 3.70 [*]	10.02 ± 4.77 ^{**}	15.90 ± 7.33 [*]	13.54 ± 5.31 [*]	11.20 ± 5.03 ^{**}

注:与治疗前比较,^{*} $P < 0.05$;与治疗2周比较,^Δ $P < 0.05$;与对照组比较,^{**} $P < 0.05$

Note: vs. before treatment, ^{*} $P < 0.05$; vs. 2 weeks after treatment, ^Δ $P < 0.05$; vs. control group, ^{**} $P < 0.05$

2.4 不良反应

治疗过程中,对照组患者有1例出现轻度头痛,未经干预自行缓解。观察组患者未见不良反应发生。两组患者不良反应发生率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.015, P > 0.05$)。

3 讨论

随着各类新型药物和监测体系的出现和完善,临床对糖尿病的治疗方案愈发成熟,而糖尿病的并发症开始成为影响患者生存质量的重要因素。糖尿病足治疗难度较大,且预后较差,患者多表现为足部溃疡和坏疽等症状,严重者会导致截肢和死亡^[6]。随着对创面愈合分子机制的研究,生长因子在创面愈合进程中的作用逐渐得到认可,生长因子的低表达可能是创面延迟愈合或病情恶化的主要原因^[9-10]。

糖尿病足溃疡的创面修复主要依赖于内源性生长因子,临床以补充外源性生长因子来加速创面愈合^[11]。本研究显示,观察组患者给予rhEGF治疗糖尿病足的总有效率明显高于对照组,且溃疡面积明显缩小,表示外源性生长因子可发挥与内源性生长因子基本一致的作用,具有良好的促创面愈合效果。对照组患者给予硫辛酸后溃疡面积也缩小,可能与抗氧化应激相关,硫辛酸可通过改善足部神经、血流状态发挥疗效。王钰等^[12]的研究显示,补充外源性胰岛素样生长因子-1可促进糖尿病模型大鼠皮肤溃疡的愈合,表现为增加成纤维细胞与毛细血管肉芽数量。刘如俊等^[13]的研究对兔大腿部创口涂抹EGF,15 d后镜下可见血管新生,组织分层、愈合良好,推测其机制与EGF上调局部组织中EGF信使RNA表达相关。艾俊俊等^[14]的研究对激光术后所致皮肤创伤患者给予rhEGF联合重组牛碱性成纤维EGF进行修复,结果显示患者的皮肤弹性得到显著改善,创面愈合良好,与本研究结果一致。

慢性、正常创面在愈合过程中均有细胞凋亡因子的参与,而细胞因子、基因蛋白对细胞凋亡有调控作用^[15]。Bcl-2是临床最早发现的凋亡抑制基因,对不同因素导致的细胞凋亡均有明确的抑制作用,且可通过抗氧化机制抑制细胞凋亡。Bax为促凋亡基因,与Bcl-2互相作用于创面愈合的过程中,当两者处于失衡状态时,创面可出现愈合延迟,导致溃疡发生。陈伟等^[16]研究认为,Bax和Bcl-2蛋白在溃疡、溃疡边缘和正常皮肤组织中的表达有明显区别,两者表达失衡可诱发溃疡创面的凋亡增加。在难治性皮肤溃疡患者中,Bcl-2表达降低,Bax表达上升,抑凋亡及促凋亡机制失衡,从而导致细胞增殖上升。本研究显示,观察组患者治疗后Bcl-2表达呈上升趋势,Bax表达呈降低趋势,且观察组患者的变化幅度明显大于对照组,显示rhEGF的作用机制可能与参与细胞增殖和细胞凋亡调节有关。本研究中观察组患者未见不良反应发生,表明该方案安全性较好。

综上所述,rhEGF联合硫辛酸治疗糖尿病足临床疗效较好,且安全性较好。但本研究样本量较小,且未对远期复发率进行随访观察,尚待大样本、多中心、长周期的研究进一步探讨。

参考文献

- [1] 李玲,臧莎莎,宋光耀.糖尿病足溃疡的危险因素与治疗进展[J].中国全科医学,2013,16(27):3 159.
- [2] 张莹,王伟灵.糖尿病足内皮功能紊乱机制的研究进展[J].检验医学,2013,28(10):948.
- [3] 李军,张莉莉,张凤新.重组人酸性成纤维细胞生长因子促进慢性溃疡性创面愈合的临床研究[J].中国医药导报,2014,11(31):49.
- [4] 廖红,董志,傅洁民,等.壳聚糖对大鼠Ⅲ度烧伤创面表皮生长因子的影响研究[J].中国药房,2008,19(19):1 467.
- [5] Apelqvist J, Bakker K, van Houtum WH, et al. International consensus and practical guidelines on the management and the prevention of the diabetic foot[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2000,16(suppl 1):84.
- [6] 国际血管联盟中国分会糖尿病足专业委员会.糖尿病足诊治指南[J].介入放射学杂志,2013,22(9):705.
- [7] 姜小飞,冉兴无.糖尿病足溃疡面积及体积计算的方法学介绍[J].华西医学,2008,23(1):114.
- [8] 刘传波,黄瑶,叶俊娜,等.糖尿病足溃疡预后相关因素研究[J].中华创伤杂志,2014,30(4):291.
- [9] 叶兰萍,武元元,曹广通,等.神经生长因子促进烫伤创面释放内源性生长因子[J].中国组织工程研究,2013,17(28):5 204.
- [10] 王虎军,齐顺贞,杨建民,等.重组人碱性成纤维细胞生长因子治疗人体Ⅱ度烧伤的疗效观察[J].中国药房,2003,14(8):480.
- [11] 谢浩煌,王晓慧,毛挺挺,等.外源性bFGF在压疮深部组织损伤中促肌肉修复及其机制的初步探讨[C]//第九届全国创伤修复(愈合)与组织再生学术会议暨第二届中欧创面修复学术会议论文集.上海:中华医学会创伤学分会组织修复专业委员会,2014:35-37.
- [12] 王钰,刘学政.不同浓度的胰岛素样生长因子-1对糖尿病大鼠皮肤溃疡愈合的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(14):3 374.
- [13] 刘如俊,赵文志,张路,等.表皮生长因子在糖尿病足溃疡创面愈合过程中的作用观察及其机制探讨[J].大连医科大学学报,2014,36(4):322.
- [14] 艾俊俊,宋为民,查伟锋,等.外用细胞生长因子对点阵超脉冲CO₂激光术后创伤修复的研究[J].中华皮肤科杂志,2012,45(4):255.
- [15] 肖孟景,李利根,李晨曦,等.大鼠深Ⅱ度烫伤后创面自噬及凋亡的表达规律[J].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(5):2 042.
- [16] 陈伟,付小兵,孙同柱,等.皮肤溃疡伤口中Bax和Bcl-2蛋白含量的变化及其与溃疡发生的关系[J].中国临床康复,2001,5(24):54.

(收稿日期:2016-05-11 修回日期:2016-08-12)

(编辑:陶婷婷)