

## 【临床基础】

通络中药结合外周血干细胞移植治疗糖尿病足的  
疗效观察及其对氧化应激状态的影响\*

高怀林, 丁来标, 曹月香, 李会玉, 张华, 孔青, 尹晓华

(河北医科大学附属以岭医院, 河北省中医药络病理论指导糖尿病  
足防治重点研究室, 石家庄 050091)

**摘要:** 目的: 观察通心络(TXL)提高自体外周血干细胞移植(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)治疗糖尿病足(diabetic foot, DF)的临床疗效及探讨其作用机制。方法: 将60例糖尿病足患者随机分为通络组(通心络结合自体外周血干细胞移植)和干细胞组(干细胞移植)。观察移植12周后临床症状和踝肱压指数(ankle brachial index, ABI)及经皮氧分压(transcutaneous oxygen partial pressure, TcPO<sub>2</sub>)变化并进行评估, 观察丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)。结果: 通络组和干细胞组患者的疼痛、冷感、麻木和间歇性跛行等临床症状明显缓解( $P < 0.01$ )及通络组可提高患者ABI和TcPO<sub>2</sub>( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ), 降低MDA( $P < 0.01$ )和升高TAOC( $P < 0.01$ ), 干细胞组可升高TcPO<sub>2</sub>( $P < 0.01$ )。通络组与干细胞组临床症状评分、ABI、TcPO<sub>2</sub>、MDA和TAOC比较差异显著( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ), 通心络组优于干细胞组。结论: 通心络对干细胞移植具有促进作用, 可提高临床疗效, 可能与其抗氧化作用有关, 故通心络结合自体PBSCT是一种安全、有效的治疗糖尿病足的新方法。

**关键词:** 通心络; 干细胞移植; 糖尿病足; 氧化应激

中图分类号: R285.6 文献标识码: B 文章编号: 1006-3250(2011)12-1350-02

糖尿病足是糖尿病常见的致残致死性并发症, 其主要特点为下肢血管远端流出道闭塞且越远端病变越重, 故药物治疗、血管搭桥、介入手术等疗效欠佳<sup>[1,2]</sup>。近年来, 随着干细胞移植治疗缺血性疾病研究的不断发展及促血管新生的中医药研究日益深入, 使采用干细胞结合中药等治疗性血管生成方法在缺血部位重建有效的侧支循环成为可能且优于单纯干细胞治疗效果。本研究旨在探索通络中药结合自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足的有效途径。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

观察病例来自我科2009年1月~2011年6月住院的2型糖尿病足患者, 根据研究设计随机分为通络组(通心络+自体外周血干细胞移植)、干细胞组(自体外周血干细胞移植)。通络组30例, 男19例, 女11例, 平均年龄55.5岁±14.6岁; 干细胞组30例, 男17例, 女13例, 平均年龄54.8岁±11.4岁, 共观察60例。2组患者性别、年龄、症状评分、ABI、TcPO<sub>2</sub>等基线资料均无明显差异( $P > 0.05$ )。

1.1.1 纳入标准 病例选取条件根据世界卫生组织(WHO)对糖尿病足病的定义选择患者, 且①所有患者肢体至少存在以下病变中的两种或以上: 肢体疼痛、患肢冷感、间歇性跛行、皮肤颜色苍白或红紫、溃疡、皮肤温度改变、踝肱压指数降低; ②所有入选患者经彩色多普勒检查均有腘动脉以下流出道狭窄或闭塞; ③控制患者空腹血糖 $< 7.0$  mmol/L, 非空腹血糖 $< 10.0$  mmol/L; ④入选患者在进行治疗前均填写知情同意书。

1.1.2 排除标准 ①血糖控制不理想的糖尿病病人(糖化血红蛋白 $> 7.0\%$ 和增殖性视网膜病

变); ②恶性肿瘤患者及合并有心血管、肝、肾、造血系统等原发性疾患; 或一般情况差不能耐受干细胞移植手术者; ③精神病患者; ④妊娠、哺乳期妇女或对本研究药物过敏者。

### 1.2 方法

1.2.1 自体外周血干细胞采集 自体外周血干细胞动员(吉粒芬450~600u皮下注射, 连用5天), 第5天白细胞总数达 $20.2 \sim 60.4 \times 10^9/L$ , 第6天采集外周血干细胞, 用COBE6.1pectraversion细胞分离机单独采集的干细胞, 根据患者CD<sub>34</sub>阳性细胞, 外周血白细胞总数, 患者下肢缺血的程度总采集量在80~140ml。将采集的单核细胞配制成 $1 \sim 6 \times 10^8/ml$ 的细胞混悬液。为防止高白细胞血症导致心、脑血管事件或血栓栓塞, 在行外周血干细胞动员的同时给予低分子肝素钙5000 IU/d, 每日2次, 皮下注射; 每日监测外周血白细胞计数、出血和凝血及临床症状变化。

1.2.2 治疗方法 通络组(通心络胶囊+自体外周血干细胞移植): 通心络, 每次4粒, 1d3次, 移植前1周开始口服(通心络胶囊 国药准字Z199980015, 石家庄以岭药业股份有限公司生产)。干细胞组: 自体外周血干细胞移植。

1.2.3 其他治疗 如果患者存在足部感染, 移植前应用抗生素控制感染后进行移植; 在干细胞移植的同时两组均给予前列地尔、西洛他唑、丹参注射液等常规药物治疗。强化控制血糖、血脂、血压、心脏功能等各项指标达标。术后积极进行抗感染及对症支持治疗, 足部溃疡定期局部换药及清创治疗。

1.2.4 干细胞移植术 严格无菌操作, 2%利多卡因20ml局部注射阻断腓肠神经, 用1ml注射器摄取干细胞混悬液, 循大血管的走行 $2.5$  cm~ $3.0$  cm× $2.5$  cm~ $3.0$  cm间距进行肌肉注射, 溃疡周围重点注射, 每个点注射 $0.8$  ml~ $1.0$  ml, 注射深度为

\*基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(2009166)

2.5cm~3.0cm,注射完毕用无菌治疗巾包裹。根据病情移植1~2次。操作完毕,移植部位消毒。嘱患者卧床休息。移植后处理:移植后用青霉素预防感染3d~5d。

1.2.5 观察指标 表1显示,在干细胞移植前、干细胞移植后12周时分别检查以下指标:①症状评分量表<sup>[3]</sup>;②踝肱压指数(ABI)(瑞典Perimed公司,PeriFlux 5000激光多普勒及经皮氧分压监测仪);③经皮氧分压(瑞典Perimed公司,PeriFlux 5000激光多普勒及经皮氧分压监测仪);④丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(TAOC)测定:均应用南京建成生物有限公司生产的试剂盒,操作严格按试剂盒说明书进行;⑤不良反应观察:观察有无异常症状、体征出现;观察血、尿、粪常规及心电图、肝、肾功能、凝血4项的改变。

表1 糖尿病足患者症状评分量表

评分	疼痛	冷感	麻木	间歇性跛行60m/min
0	无	无	无	≥500m无疼痛
1	偶有	偶有	有时有轻度麻木感	400~490m疼痛
2	经常、可忍受	经常	经常有轻度麻木感	300~399m疼痛
3	需用止痛剂	明显	经常有轻度麻木感,有时有强度麻木感	100~299m疼痛
4	难以忍受止痛剂无缓解	冰冷	经常有强度麻木感	<100m静息痛

### 1.3 统计学方法

采用SPSS13.0统计软件进行统计分析。计量资料采用均数±标准差进行统计描述。计量资料采用配对t检验和t检验,以P<0.05为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2组患者治疗前后症状评分变化 2组患者治疗后与治疗前比较,患者的疼痛、冷感、麻木、间歇性跛行差异均有统计学意义(P<0.01);2组间比较,疼痛、冷感、麻木、间歇性跛行差异均有统计学意义(P<0.01或P<0.05)。

### 2.2 2组患者治疗前后ABI、TcPO<sub>2</sub>评分变化

表3显示2组患者治疗后与治疗前比较,通络组ABI、TcPO<sub>2</sub>差异均有统计学意义(P<0.01或P<0.05),干细胞组ABI差异无统计学意义(P>0.05),TcPO<sub>2</sub>差异有统计学意义(P<0.05);2组间比较,ABI、TcPO<sub>2</sub>有统计学意义(P<0.05)。

表2 2组患者症状变化(n=30,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	疼痛	冷感	麻木	间歇性跛行
通络组	3.05±0.96	3.13±1.21	1.93±1.12	3.25±1.15
干细胞组	2.99±1.15	2.76±0.81	2.01±1.03	2.01±1.03
治疗后	0.72±0.33* <sup>△</sup>	0.64±0.26* <sup>△</sup>	0.86±0.35* <sup>△</sup>	2.62±0.33* <sup>△</sup>
治疗后	1.37±0.82*	1.15±0.71*	1.16±0.54*	1.15±0.56*

注:与组内治疗前比较:\*P<0.01;治疗后通络组与干细胞组比较:△P<0.01,\*P<0.05

表3 2组患者ABI、TcPO<sub>2</sub>指标变化(n=30,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	ABI	TcPO <sub>2</sub>
通络组	0.39±0.16	33.42±7.23
干细胞组	0.38±0.23	32.12±11.35
治疗后	0.62±0.18* <sup>#</sup>	41.34±9.21* <sup>#</sup>
治疗后	0.53±0.04	36.56±11.62*

注:与组内治疗前比较:\*P<0.01,\*P<0.05;治疗后通络组与干细胞组比较:△P<0.05

### 2.3 2组患者治疗前后MDA、TAOC评分变化

表4显示2组患者治疗后与治疗前比较,通络组MDA、TAOC差异均有统计学意义(P<0.01或P<0.05),干细胞组MDA、TAOC差异均无统计学意义(P>0.05);2组治疗后比较,MDA、TAOC均有统计学意义(P<0.01)。

表4 2组患者MDA、TAOC指标变化(n=30,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MDA(nmol/ml)	TAOC(U/ml)
通络组	8.24±3.95	8.52±4.21
干细胞组	8.09±4.25	8.32±4.33
治疗后	6.17±2.66* <sup>△</sup>	10.70±4.26* <sup>△</sup>
治疗后	8.11±3.52	8.45±4.31

注:与组内治疗前比较:\*P<0.01,\*P<0.05;治疗后通络组与干细胞组比较:△P<0.01。

### 2.4 不良反应

术后第2天5例患肢出现剧烈疼痛,均于7d内自行缓解,无需其他治疗;3例术后第2~3天出现低热,未超过38.5℃,3d内降至正常范围;所有患者手术前后心电图、肝肾功能无特殊改变,出凝血时间正常,注射部位均无红肿、疼痛、渗出、溃疡情况等不良反应。

## 3 讨论

糖尿病足早期多为皮肤改变,包括足部皮肤色泽异常、皮肤温度减低、皮肤水疱、丘疹、浅表破溃等,如不及时诊治则可以迅速发展为溃疡、截肢,由于糖尿病足发现比较晚,常常合并广泛的感染,所以足溃疡和截肢很常见<sup>[4]</sup>。糖尿病足是糖尿病患者致残的主要原因,严重影响了患者的身心健康。自体外周血干细胞移植是近年来新兴的一项治疗技术,大量的实验和临床应用证明自体PBSC是治疗下肢缺血性疾病的一种很有应用前景的方法。由于人体干细胞可以分化为血管内皮细胞,形成新生血管,故将自体外周血里的干细胞移植到缺血的下肢内,使其逐渐分化并形成新的毛细血管,促进侧支循环建立,改善和恢复下肢血流,达到治疗下肢血管病变与糖尿病足的目的<sup>[5-8]</sup>。但有时新生血管及侧支循环建立较慢且数目较少,使临床疗效不甚理想。近年来,中药在促血管新生方面研究不断深入,王文健<sup>[9]</sup>等发现通心络大剂量可促进鸡CAM的血管增生,具有一定的促血管新生作用;通心络<sup>[10]</sup>能够通过促进VEGF大量表达而保护脑毛细血管内皮细胞,促毛细血管新生。以往报道<sup>[11]</sup>糖尿病足患者其氧化应激状态增强,抗氧化状态减弱,通心络<sup>[12-14]</sup>对急性心肌梗死、脑血管病有很好的抗氧化作用。那么通心络结合干细胞移植是否会增加临床疗效,并会通过抗氧化改善内环境,进而促进侧支循环建立,改善下肢缺血状态。

本实验通过对2组患者组间进行比较,通络组在改善冷感、麻木感、疼痛、间歇性跛行方面优于干细胞组,说明在干细胞移植时应用通络中药可以明显改善患者症状,并优于干细胞组。但由于我们观察期较短,中药促血管新生的作用尚未完全体现,一些临床症状尚需长期观察以客观评价通络中药的疗效。在干细胞治疗早期,干细胞组治疗后ABI无明显改善,但干细胞加通心络后ABI有明显变化。(下转第1353页)

显,对照组则未见明显统计学差异。尽管2组空腹血糖均有非常显著改善,降幅试验组10.37%优于对照组7.45%,提示试验组对于血糖控制更佳。HbA1c均有下降趋势,但未显示统计差异。

表3 血糖、HbA1c变化

组别	项目	时间	均值±标准差	均值下降率	t值	P值
试验组	空腹血糖	试验前	8.203±1.485			
		试验12周后	7.352±1.558	10.37%	5.044	0.000
	餐后2h血糖	试验前	11.312±2.983			
		试验12周后	9.728±3.080	14.00%	4.096	0.000
	HbA1c	试验前	6.803±1.383			
		试验12周后	6.653±1.023		1.153	0.254
对照组	空腹血糖	试验前	8.341±1.644			
		试验12周后	7.720±2.019	7.45%	2.162	0.034
	餐后2h血糖	试验前	12.082±2.962			
		试验12周后	11.233±3.704	7.03%	1.877	0.104
	HbA1c	试验前	7.130±1.312			
		试验12周后	6.861±1.148		1.680	0.098

### 2.3 血脂变化情况

表4显示,中心01试验组LDL治疗前后有显著改善,而对照组则无显著改变(表7);2组TG、TC、HDL治疗前后均未见显著改变(均 $P < 0.05$ ),见下表。中心02试验组与对照组血脂4项试验前后均无显著改变。

### 2.5 疗效评定

表5显示2组疾病疗效判定结果显示,试验组的总有效率达72.13%,高于对照组54.69%,有显著统计学差异。(Z值-2.425,P值0.015)。

表4 血脂变化情况

组别	项目	时间	均值±标准差	t值	P值
试验组	LDL	试验前	2.970±0.807	2.124	0.047
		试验后	2.753±0.759		
对照组	LDL	试验前	2.895±0.701	0.415	0.681
		试验后	2.828±0.585		

表5 2组疾病疗效判定

组别	总例数	显效	显效率(%)	有效	有效率(%)	无效	无效率(%)	总有效	总有效率(%)
试验组	61	22	36.07	22	36.07	17	27.87	44	72.13
对照组	64	12	18.75	23	35.94	29	45.31	35	54.69

### 3 讨论

消渴的症状为“不足”、“有余”并存,着手“化”字组方配伍,致力于恢复机体自身运化功能,致力于促进水谷精微转化为人体气血,立意新颖。试验结果印证了这一设想。另外全程无不良事件发生,显示本品安全有效。但本次研究限于各方面因素,在合并用药、对照药选择、病例样本等方面尚有不完善之处,希冀今后能进行更深入的探讨。

### 参考文献:

[1] 王洪图.《黄帝内经·素问》白话解.北京:人民卫生出版社,2005:3.  
 [2] 苏宝刚.金匱要略讲义.北京:学苑出版社,1995:2.  
 收稿日期:2011-03-22  
 △通讯作者:李兴广(1959-),山西人,主任医师,从事基础理论与临床研究,E-mail:lixingguang20032003@yahoo.com.cn.

(上接第1351页)

其原因,ABI指标主要反映主干血管的供血情况,干细胞在体内肌肉内分化成内皮细胞,然后演变为很多的小的毛细血管,主要变为小的侧支血管,只有小腿上侧支血管的血流达到足背动脉和胫后动脉后才能使ABI增加<sup>[15]</sup>;另外,干细胞移植的时间短,血管重建需要一定的时间,新生血管及侧支循环尚未完全建立,所以干细胞移植短期内对ABI指标影响较小,但加入通络中药后ABI改善明显,说明通络中药有一定的加速促进血管新生作用。经皮氧分压以反映局部血供情况为主,中药的优势在于促进血管新生、改善微循环,在干细胞移植治疗早期即可发挥作用,这表现为通络组TcPO<sub>2</sub>的改善度优于干细胞组,可以认为通络组对局部微循环的改善程度优于干细胞组。从2组间临床症状、客观指标(ABI、TcPO<sub>2</sub>)比较结果来看,通络组均优于干细胞组。可以证实通络中药可以加强干细胞移植的治疗效果。另外,实验证明通络组与干细胞组比较,MDA下降,TAOC升高,通络组有抗氧化的作用。以上实验提示通心络具有增强自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足疗效的作用,可能与通心络具有抗氧化,改善患者内环境,促进干细胞移植后血管新生,建立侧支循环的作用有关,其确切机制还需进一步研究。且本课题未出现明显的不良反应,是一种安全、有效的中西医结合治疗糖尿病足的新方法。

### 参考文献:

[1] Rmstrong DG, ykberg RG. assifying diabetic foot surgery: toward a rational definition[J]. Diabet Med, 2003, 20(4): 329-331.  
 [2] 王富军,杜亚萍,杨艳辉,等.自体外周血干细胞移植治疗糖尿病足11例临床研究[J].临床荟萃,2007,22(23):1729-1730.

[3] 高继平,书桂,黄平平,等.脉炎消治疗多发性大动脉炎39例临床分析[J].中国中西医结合外科杂志,1996,2(3):145.  
 [4] 许樟荣.糖尿病足病的防治[J].中国实用内科杂志,2007,27(7):485-487.  
 [5] 秦汉林,高斌.自体干细胞移植治疗糖尿病足的研究进展[J].介入放射学杂志,2010,19(9):753-758.  
 [6] Tepper OM, Capla JM, Capla JM. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures[J]. Circulation, 2002, 106(22):2781-2786.  
 [7] Iwaguro H, Kalka C, Kalka C. Endothelial progenitor cell vascular growth factor gene transfer for vascular regeneration[J]. Circulation, 2002, 105(2):732-738.  
 [8] Schatteman GC, Jiao C, Jiao C. Blood-driven angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice[J]. Journal of Clinical Investigation, 2000, 106(11):571-578.  
 [9] 王文键,傅晓东,陈伟华,等.通心络促血管生成作用的实验研究[J].疑难病杂志,2003,2(1):2.  
 [10] 马芳.通心络促缺血后毛细血管新生的实验研究[J].卫生职业教育,2004,22(17):151-152.  
 [11] 高利娟.血清丙二醛、总抗氧化能力、维生素E与糖尿病下肢血管病变的关系[J].中国误诊学杂志,2010,10(4):774-775.  
 [12] 段炼,杨荆,张海涛,等.猪急性心肌梗死再灌注后氧化应激损伤及通心络的保护作用[J].中国病理生理杂志,2010,26(3):430-434.  
 [13] 袁凌燕,张红旗,徐丹令,等.通心络超微粉对“络气虚滞”大鼠血管氧化损伤的保护作用[J].中医杂志,2009,50(7):642-645.  
 [14] 谢莲娜,曾定尹,张海山,等.通心络通过降低循环血管紧张素II水平及抑制局部氧化应激反应预防血管痉挛[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(9):677-681.  
 [15] 谷涌泉,张健,许樟荣,等.糖尿病足病诊疗新进展[M].北京:人民卫生出版社,2006:348-349.

收稿日期:2011-07-02

作者简介:高怀林(1965-),男,主任医师,医学博士,从事糖尿病与络病的理论与临床研究,Tel:13833114748,E-mail:gaohuailin@126.com.