

• 论 著 •

大剂量甲钴胺联合灯盏花注射液治疗糖尿病足 对 TNF- α 、CRP 水平及 AT-Ⅲ 活性的影响^{*}

叶青跃¹, 杨 扬¹, 牡丹心¹, 程鹏飞², 张明洁^{1△}

(1. 武汉科技大学附属天佑医院, 湖北武汉 430064; 2. 武汉大学医院, 湖北武汉 430071)

摘要:目的 观察大剂量甲钴胺联合灯盏花注射液对糖尿病足(DF)患者血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C 反应蛋白(CRP)水平及抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)活性的影响。**方法** 240 例 DF 患者按随机数字表法分为 4 组:大剂量甲钴胺+灯盏花注射液治疗组 60 例(Ⅳ组),常规剂量甲钴胺+灯盏花注射液治疗组 60 例(Ⅲ组),单纯灯盏花注射液治疗组 60 例(Ⅱ组),单纯常规剂量甲钴胺治疗组 60 例(Ⅰ组),4 周为 1 疗程。治疗前后检测 TNF- α 、CRP 水平及 AT-Ⅲ 活性并进行对比分析。**结果** 治疗前 4 组血清 TNF- α 、CRP 及 AT-Ⅲ 检测结果之间差异无统计学意义($P>0.05$);分别行治疗前后比较,4 组治疗后血清 TNF- α 及 CRP 结果均较治疗前降低,AT-Ⅲ 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 I、II、III 组治疗后比较,IV 组差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 甲钴胺联合灯盏花注射液能降低 DF 患者血清中炎症因子如 TNF- α 及 CRP 的水平,并使 AT-Ⅲ 活性升高,尤其是甲钴胺浓度增加时效果更显著。因此,采取增加甲钴胺浓度联合灯盏花注射液的治疗方法能更明显地降低 DF 的炎症反应,且安全性好,是提高治疗 DF 的有效手段之一。

关键词:糖尿病足; 甲钴胺; 灯盏花注射液

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)01-0017-03

Influence of large dose of mecobalamin combined with Breviscapin Injection for treating diabetic foot on TNF- α and CRP levels and antithrombin Ⅲ activity

Ye Qingyue¹, Yang Yang¹, Du Danxin¹, Cheng Pengfei², Zhang Mingjie^{1△}

(1. Affiliated Tianyou Hospital, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430064, China;

2. Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China)

Abstract: **Objective** To observe the influence of large dose of mecobalamin combining with Breviscapin Injection on the levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and C-reactive protein (CRP) and the antithrombin Ⅲ (AT-Ⅲ) activity in the patients with diabetic foot(DF). **Methods** 240 cases of DF were divided into 4 groups according to the random number table method, 60 cases in each group; the large dose of mecobalamin plus Breviscapin Injection group (group Ⅳ); the routine dose of mecobalamin plus Breviscapin Injection group (group Ⅲ); the simple Breviscapin Injection group (group Ⅱ) and the routine dose of mecobalamin group (group Ⅰ). 4 weeks were taken as a course of treatment. The TNF- α , CRP levels and the AT-Ⅲ activity before and after the treatment were detected and performed the comparative analysis. **Results** The levels of TNF- α , CRP and AT-Ⅲ before treatment had no statistically significant differences among in the four groups ($P>0.05$). Compared with the results before treatment, the levels of TNF- α and CRP after treatment in 4 groups were obviously decreased and the AT-Ⅲ level was significantly increased, the differences had statistical significance ($P<0.05$); compared with the group I, II and III, the difference in the group IV had statistical significance ($P<0.05$). **Conclusion** Mecobalamin combined with Breviscapin Injection is able to decrease the serum inflammatory factors such as TNF- α and CRP, and increase the AT-Ⅲ activity in the patients with DF, which is more significant when increasing the mecobalamin concentration. Therefore, adopting the therapeutical scheme of increasing the mecobalamin concentration combined with Breviscapin Injection could obviously decrease the inflammatory reaction of DF with good safety, which is one of effective measures for increasing the curative effect of DF.

Key words: diabetic foot; mecobalamin; Breviscapin Injection

糖尿病足(DF)是由于高血糖导致神经病变、外周血管病变和感染等引发的常见足部疾病^[1]。中国 DF 的截肢率约为 21%~66%^[2],其发病涉及血管功能障碍、神经病变、糖脂代谢紊乱、非酶促糖基化反应等多种病理生理机理。为给 DF 的治疗提供更好的诊断和观察依据,本文对 DF 患者进行大剂量甲钴胺联合灯盏花注射液治疗,并与常规剂量甲钴胺+灯盏花注

射液治疗、单纯灯盏花注射液治疗及单纯常规剂量甲钴胺治疗进行比较,观察治疗前后血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C 反应蛋白(CRP)水平及抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)活性,并观察治疗前后其白细胞计数(WBC)及中性粒细胞(N)所占百分比,分析大剂量甲钴胺联合灯盏花注射液对 DF 的治疗效果,试验结果如下。

^{*} 基金项目:湖北省教育厅重点科研项目(D20101109);湖北省教育厅教学项目(2008008);武汉科技大学引进人才科研启动基金(530012)。

作者简介:叶青跃,男,主管技师,主要从事血液学检验工作。△ 通讯作者, E-mail: mingjie zhang1959@sion.com。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 6 月至 2012 年 12 月本院收治的 T2DM 伴 DF 患者 240 例,其诊断均符合 2005 年中华医学会糖尿病分会关于糖尿病新诊断标准及分型标准^[3]。DF 的严重程度按 Wagner 标准分级^[4],按随机数字表法分为 4 组:大剂量甲钴胺+灯盏花注射液治疗组(Ⅳ组, $n=60$),其中男性 33 例,女性 27 例,年龄 30 ~ 80 岁,平均 59.6 岁;常规剂量甲钴胺+灯盏花注射液治疗组(Ⅲ组, $n=60$),其中男性 34 例,女性 26 例,年龄 29 ~ 80 岁,平均 59.1 岁;单纯灯盏花注射液治疗组(Ⅱ组, $n=60$),其中男性 32 例,女性 28 例,年龄 31 ~ 79 岁,平均 60.2 岁。单纯常规剂量甲钴胺治疗组(Ⅰ组, $n=60$),其中男性 31 例,女性 29 例,年龄 30 ~ 80 岁,平均 58.5 岁。所有对象排除心脑血管疾病,无其他部感染、手术、创伤及恶性肿瘤等病史。4 组的性别、年龄等统计学分析无显著差异($P>0.05$),

1.2 试剂和仪器 TNF- α 由中国科技大学中佳光电仪器公司生产的 GC-911 型 γ -放射免疫计数器分析,试剂由东亚免疫试剂研究所提供;CRP 采用美国雅培公司生产的 I2000 全自动发光仪检测,试剂为仪器配套产品;AT-Ⅲ测定使用日本 Sysmex 公司生产的 Sysmex CA1500 全自动血凝仪,试剂由 Sysmex 公司生产。WBC 及 N 观察应用库尔特-贝克曼(美国库尔特-贝克曼公司生产)五分类血细胞分析仪,所用试剂、质控血球及清洗剂均由库尔特-贝克曼公司提供。甲钴胺由日本卫材株式会社生产,规格为 0.5 mg/支。盐酸灯盏花注射液由湖南恒生制药有限责任公司生产,规格为 20 mg/支。

1.3 方法 4 组患者均予以生活方式干预、降糖、降压、调脂等常规治疗,急性期短期使用敏感抗菌药物,足部创面予以彻底清创,及时处理相关糖尿病并发症。Ⅰ组给予甲钴胺 1 支+0.9%氯化钠注射液 100 mL(配用时避光),1 次/d;Ⅱ组给予盐酸灯盏花注射液 2 支+0.9%氯化钠注射液 250 mL,静脉滴注,1 次/d;Ⅲ组在静脉滴注盐酸灯盏花治疗基础上联用甲钴胺 1 支+0.9%氯化钠注射液 100mL(配用时避光),1 次/d;Ⅳ组在静脉滴注盐酸灯盏花治疗基础上联用甲钴胺 2 支+0.9%氯化钠注射液 100 mL(配用时避光),1 次/d。4 治疗组均以 4 周为一疗程。

1.4 标本采集和处理 4 组患者于治疗前及一疗程结束后,晨 7 点 30 分左右抽取患者空腹静脉血 7.5 mL,其中 5.7 mL 分置于专用促凝管 3.0 mL 及 0.109 mmol/L 枸橼酸钠抗凝管 2.7 mL,颠倒混匀,3 000 r/min,离心 5 min,取血清采用放射免疫法检测 TNF- α 及 CRP,并取血浆采用磁珠法检测 AT-Ⅲ;余 1.8 mL 置含有 EDTA-K₂ 0.2 mL 的专用真空管中,检测血液分析,并观察其中的 WBC 及 N。

1.5 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计学软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,两组间均数比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 4 组患者治疗前后检测结果比较 治疗前 4 组血清 TNF- α 、CRP 及 AT-Ⅲ检测结果之间差异无统计学意义($P>0.05$);分别行治疗前后比较,4 组治疗后血清 TNF- α 及 CRP 结果均较治疗前降低,AT-Ⅲ水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组治疗后比较,Ⅳ组各项指标差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 4 组(未合并败血症,未使用抗菌药物)患者治疗前后 WBC 及 N 结果比较 治疗前 4 组全血 WBC 及 N 检测结果之间差异无统计学意义($P>0.05$);与治疗后比较,4 组全血 WBC 及 N 结果均较治疗前降低,Ⅳ组差异有统计学意义($P<0.05$);与Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ组治疗后比较,Ⅳ组 2 项指标差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 1 4 组患者治疗前后血清 TNF- α 、CRP 及 AT-Ⅲ检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	分类	n	TNF- α (g/L)	CRP(mg/L)	AT-Ⅲ(%)
Ⅰ组	治疗前	60	17.26 $\pm$ 8.16	8.31 $\pm$ 4.04	70.45 $\pm$ 9.87
	治疗后	60	8.46 $\pm$ 5.27 [#]	6.09 $\pm$ 3.02 [#]	78.48 $\pm$ 11.35 [#]
Ⅱ组	治疗前	60	17.18 $\pm$ 8.12	8.36 $\pm$ 4.34	70.45 $\pm$ 9.87
	治疗后	60	8.53 $\pm$ 5.26 [#]	6.05 $\pm$ 3.06 [#]	77.46 $\pm$ 11.43 [#]
Ⅲ组	治疗前	60	17.16 $\pm$ 8.11	8.31 $\pm$ 4.27	70.63 $\pm$ 9.37
	治疗后	60	7.36 $\pm$ 3.54 [#]	5.15 $\pm$ 2.68 [#]	81.46 $\pm$ 11.48 [#]
Ⅳ组	治疗前	60	17.23 $\pm$ 8.19	8.39 $\pm$ 4.30	69.89 $\pm$ 11.02
	治疗后	60	5.09 $\pm$ 2.15 ^{#*$\blacktriangle$}	2.89 $\pm$ 1.36 ^{#*$\blacktriangle$}	86.51 $\pm$ 12.61 ^{#*$\blacktriangle$}

[#]: $P<0.05$,与同组治疗前比较;*: $P<0.05$,Ⅳ组与Ⅰ组治疗后比较; $\blacktriangle$: $P<0.05$,Ⅳ组与Ⅱ组治疗后比较; $\blacktriangle$: $P<0.05$,Ⅳ组与Ⅲ组治疗后比较。

表 2 4 组(未合并败血症)患者治疗前后全血 WBC 及 N 检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	分类	n	WBC($\times 10^9$ /L)	N(%)
Ⅰ组	治疗前	57	8.32 $\pm$ 2.11	81.62 $\pm$ 4.54
	治疗后	57	7.59 $\pm$ 2.04	75.17 $\pm$ 3.56
Ⅱ组	治疗前	57	8.37 $\pm$ 2.92	82.62 $\pm$ 4.54
	治疗后	57	7.03 $\pm$ 2.07	71.56 $\pm$ 3.78
Ⅲ组	治疗前	57	8.33 $\pm$ 2.21	82.31 $\pm$ 4.47
	治疗后	57	7.16 $\pm$ 2.04	72.15 $\pm$ 3.51
Ⅳ组	治疗前	57	8.39 $\pm$ 2.18	81.35 $\pm$ 4.39
	治疗后	57	6.27 $\pm$ 2.05 [#]	63.89 $\pm$ 3.06 [#]

注:Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ分别与同组治疗前比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 合并败血症组(使用抗菌药物)患者治疗前后 WBC 及 N%结果比较 合并败血症患者,使用抗菌药物治疗后全血 WBC 及 N%结果均较治疗前明显降低降低,差异有显著性($P<0.05$)。见表 3。

表 3 合并败血症患者治疗前后全血 WBC 及 N%检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

分类	n	WBC($\times 10^9$ /L)	N(%)
治疗前	12	28.29 $\pm$ 4.14	91.62 $\pm$ 5.52
治疗后	12	5.59 $\pm$ 2.04 ^{$\blacktriangle$}	56.13 $\pm$ 3.51 ^{$\blacktriangle$}

$\blacktriangle$: $P<0.05$,治疗后与同组治疗前比较。

3 讨 论

DF 为临床常见疾病,是糖尿病最严重的并发症之一,发病机理复杂。TNF- α 是一种具有广泛生物学功能的多态类细胞因子,主要由单核巨噬细胞产生。它具有抗肿瘤、感染和促进

组织修复等重要作用。若持续释放,则会引起机体发热、休克、恶病质和组织损伤。本文结果中,DF 患者 TNF- α 水平明显升高,提示 TNF- α 参与了糖尿病患者下肢血管病变的发生和发展。有研究发现^[5],TNF- α 不仅可以诱导胰岛素抵抗,同时也对血管内皮功能造成损伤,诱发机体炎症反应,启动血管粥样硬化过程。

CRP 由炎症淋巴因子 TNF- α 及白细胞介素 6、白细胞介素 1 刺激肝脏上皮细胞合成,是炎症、感染、组织损伤、坏死和恶性肿瘤的一个重要标志物^[6],其在健康人群中浓度很低(约为 3.0 mg/L),浓度升高提示炎症、感染的发生,被用于临床感染性疾病和心血管疾病的监测指标^[7]。

AT-III 是丝氨酸蛋白酶抑制物超家族中的一员,是人体抗凝系统的主要因子之一,其抗凝作用占体内总抗凝作用的 75%^[8]。

DF 患者 NF- α 及 CRP 水平增高的可能机理为^[9-11]:(1)胰岛素抵抗。胰岛素可阻断肝脏合成 CRP,胰岛素抵抗或胰岛素敏感性降低则造成胰岛素的生理作用下降,导致 CRP 合成增加。此外,胰岛素抵抗时 TNF 的表达和合成增高,作用于肝脏导致 CRP 增加,并可通过抑制胰岛素受体酪氨酸激酶活性而加重胰岛素抵抗,进一步促进前炎症细胞因子的产生。(2)胰岛素分泌减少。高血糖可促进胰岛细胞分泌白细胞介素 6,大量白细胞介素 6 则可促进 B 淋巴细胞分化,增殖产生过量 IgG。同时也可促进杀伤 T 淋巴细胞克隆的过度激活,促使其其他细胞因子和效应分子的细胞毒协同作用,引起胰岛 B 细胞凋亡,而且大量的白细胞介素 6 可作用于肝脏,使 CRP 及 TNF- α 生成增加。DF 患者 AT-III 水平降低的可能机理为:其内皮细胞功能受损直接激活内、外凝血途径,消耗大量 AT-III,且使 AT-III 生成发生障碍^[12]。

DF 患者灯盏花注射液联合大剂量甲钴胺治疗后,血清 TNF- α 及 CRP 水平均明显降低,AT-III 活性显著升高。原因在于灯盏花素注射液是从菊科飞蓬属植物灯盏花全株植物中提取分离的黄酮类有效成分,具有明显降低全血黏度、血浆黏度、纤维蛋白原及胆固醇和三酰甘油等作用,能改善血液的高黏凝聚状态和微循环,能减轻末梢神经损害,修复内皮细胞功能^[13-14]。甲钴胺是甲基化的维生素 B12,在外周神经中含量高,可以直接转运入神经细胞内,并通过转甲基作用,刺激轴浆蛋白质及雪旺细胞卵磷脂合成,修复髓鞘,使轴突受损区域再生,改善神经传导速度。应用大剂量的甲钴胺静脉滴注治疗,能更有效促进神经病变的修复^[15-16]。两种药物联合使用,使得血清 CRP 及 TNF- α 水平明显降低,AT-III 水平显著升高。

DF 局部感染患者较少出现高热症状。本文观察发现,DF 患者合并败血症则全身症状明显加重,WBC 及 N 明显增高。经选用敏感抗菌药物抗感染治疗后,体温下降,WBC 及 N 恢复正常;未合并败血症患者,WBC 及 N 增高不明显,这可能与 DF 患者糖尿病史较长,患者机体免疫反应及应激反应能力较差有关^[17]。对于 DF 非感染状态,采用 TNF- α 、CRP 等更能体现机体慢性的炎症反应状态。

综上所述,甲钴胺联合灯盏花注射液能降低 DF 患者血清

中炎症因子如 TNF- α 及 CRP 的水平,并使 AT-III 活性升高,尤其是甲钴胺浓度增加时效果更显著。因此,采取增加甲钴胺浓度联合灯盏花注射液的治疗方法能更明显降低 DF 的炎症反应,且安全性好,是提高治疗 DF 的有效手段之一。

参考文献

- [1] 李志红,房辉,张云良,等.血清 MMP-2 及其组织抑制因子-1 与糖尿病足的关系[J].临床检验杂志,2010,28(5):366-368.
- [2] Xiang L,Xiao T. Incidence,risk factors for amputation among patients with diabetic foot ulcer in a Chinese tertiary hospital[J]. Diabetes Res Clin Pract,2011,93(1):26-30.
- [3] 中华医学会糖尿病分会.关于糖尿病的新诊断标准及分型[J].中华糖尿病杂志,2005,8(1):5-7.
- [4] 左红,王述进,杨华,等.糖尿病足合并感染患者血清高敏 C 反应蛋白和纤维蛋白原浓度变化及其相关性研究[J].陕西医学杂志,2012,41(2):203-205.
- [5] Christian RM,Helena D,Nikolaj I,et al. Tumor necrosis factor inhibits insulin's stimulating effect on glucose uptake and endothelium-dependent vasodilation in humans[J]. Circulation,2003,108(2):108-109.
- [6] Li JJ,Feng CH. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular disease[J]. Med Hypotheses,2004,62(6):499-506.
- [7] 左红,王述洪,杨华,等.糖尿病足视网膜病变患者情况及相关危险因素[J].陕西医学杂志,2012,41(10):1351-1352.
- [8] 姚泰.生理学[M].第 6 版.北京:人民卫生出版社,2003:66-67.
- [9] 熊微,熊亮,张静,等.糖尿病足患者血浆 D-二聚体、纤维蛋白原水平及抗凝血酶 III 活性[J].微循环学杂志,2013,23(2):26-27.
- [10] Spranger J,Kroke A,Mohlig M,et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes:results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study[J]. Diabetes,2003,52(11):812-817.
- [11] 孟宪华,蔡迪娅,全敏,等. C 反应蛋白与糖尿病及糖尿病足的关系[J].中国慢性病预防与控制,2006,14(6):433-434.
- [12] 沈翠婵,黄影薇.2 型糖尿病患者抗凝血酶 III、凝血酶时间的检测分析[J].中国医药指南,2013,11(14):26-27.
- [13] 钟伟,廖雪梅,李章白.低分子肝素钙联合灯盏花素治疗对老年肺源性心脏病急性发作期 NO、ET-1 水平的影响[J].国际检验医学杂志,2014,35(13):1691-1693.
- [14] 李彦玲.灯盏花素与山莨菪碱联合治疗糖尿病足 22 例临床观察[J].中国医药科学,2012,2(14):62-63.
- [15] 颜刚,陶飞.血塞通、黄芪联合甲钴胺治疗糖尿病周围神经病变的临床体会[J].亚太传统医药,2011,7(4):64-65.
- [16] 李远.川芎嗪联合大剂量甲钴胺治疗糖尿病足[J].广东医学,2003,24(8):887-888.
- [17] 杨靖,文芳.68 例糖尿病足细菌培养及相关结果分析[J].中国现代医学杂志,2009,19(16):2500-2502.

(收稿日期:2014-11-20)