tone[J]. J Pain Symptom Manage,2017,53(2):288-292.
[8] WANG Y F, TANG J T, HAN T, et al. Tolvaptan in Chinese cirrhotic patients with ascites: A randomized, placebo-controlled phase 2 trial[J]. J Dig Dis,2018,19(3):144-154.
[9] 程莉霞.小剂量利尿剂口服预防肝硬化腹水复发的疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2016,3(13):2464-2465.

收稿日期:2023-12-20
(本文编辑:钟美春)

硫辛酸联合踝泵运动治疗糖尿病足的疗效及 TGF-β1/Smad3 信号通路的调控作用

梅超,王菲菲,林霞,吴奇红

【关键词】 糖尿病足;硫辛酸;踝泵运动;TGF-β1/Smad3 信号通路
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.04.030
【中图分类号】 R587.1 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)04-0522-04

近年来,糖尿病患病人数呈现快速增加的趋势。糖尿病足是糖尿病患者的严重并发症之一,严重影响患者的生存质量[1]。研究显示,国内糖尿病足发病率呈逐年上升趋势,糖尿病门诊中糖尿病足占3.67%,而截肢率已高于 1%[2]。硫辛酸是糖尿病临床治疗的一线用药,其在治疗糖尿病周围神经病变方面具有很大优势[3]。在硫辛酸治疗基础上,采用踝泵运动干预可进一步提高糖尿病足患者新陈代谢能力,促进局部血液循环和肉芽组织恢复[4]。在各种细胞调控与生长因子中,转化生长因子-β1(TGF-β1)与创面修复的关联最为密切,其也是 TGF-β/Smad 信号通路的核心调控因子。已有研究揭示,TGF-β1/Smad3 信号通路在肉芽组织修复和创面愈合中发挥十分重要的调控作用[5]。但硫辛酸促进糖尿病足创面愈合的作用靶点是否在 TGF-β/Smad 信号通路目前尚未明确。本文探讨硫辛酸联合踝泵运动治疗早期糖尿病足对患者血糖、血管内皮因子、炎症因子、抗氧化酶活性及 TGF-β1/Smad3 信号通路的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取湖州市第一人民医院内分泌科 2019 年 6 月至 2022 年 6 月收治的糖尿病足患者 106 例。纳入标准:(1)病历一般资料完整;(2)符合糖尿病 WHO 诊断标准,按照 Wagner 分级法对糖尿病足进行分级。排除标准:(1)对研究使用药物过敏,(2)存在肝肾心等脏器功能不全,(3)治疗依从性差。采用随机数字表法分为对照组和观察组,每组 53 例。两组一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。本研究获得湖州市第一人民医院医学科研与临床试验伦理委员会批准,所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 方法 对照组接受常规治疗,包括创面消毒换药、抗感染、血糖控制及微循环改善。观察组患者在对照组基础上加用硫辛酸胶囊(硫辛酸胶囊,国药准字 H20100153)干预治疗,1 次/d,0.2 g/次,两组患者治疗干预均持续 3 个月。观察组同时采用踝泵运动辅助治疗:(1)取平卧位,下肢伸展,保持自然放松状态;(2)缓慢将脚尖勾起至最大限度,并维持 10 s;(3)后将脚尖缓慢压下至最大限度,维持 10 s;(4)以脚踝为中心,顺时针最大限度旋转足部;重复(2)、(3)动作后逆时针旋转。每周踝泵运动 5 ～ 7 d,每日运动时间为饭后 1 ～ 1.5 h,3 次/d,每次时间在 5 min 以上。

1.3 观察指标 (1)疗效检测。参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2022 年版)》[6]对患者疗效进行评定。下肢麻木感、发凉及疼痛症状完全消失,且创面愈合面积高于 80%为显效;下肢麻木感、疼痛有好转,创面

基金项目: 湖州市科技计划项目(2022GYB26)
作者单位: 313000 浙江省湖州,湖州市第一人民医院
通信作者: 梅超,Email:meichaoanji@163.com

愈合面积在 40%～ 80%为有效；下肢麻木感、疼痛无任何转变且创面愈合面积低于 40%为无效。总有效率=显效率+有效率。（2）采用离子交换层析法检测糖化血红蛋白（HbA1c）水平，采用葡萄糖氧化酶法检测餐后 2 h 血糖、空腹血糖水平。（3）用酶联免疫吸附法测定患者血清炎性反应及血管内皮功能指标，包含白细胞介素-6（IL-6）、超敏 C-反应蛋白（hs-CRP）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、血管细胞黏附分子-1（VCAM-1）及纤维细胞生长因子-2（FGF-2）。（4）采用硫代巴比妥酸反应法检测血清丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）水平，通过活性氧（ROS）检测试剂盒检测外周血裂红后细胞 ROS 水平，并采用 C11-BODIPY 荧光探针对 lipid-ROS 水平进行流式检测。（5）采用 qPCR 和 Western blot 检测患者治疗前和治疗后第 1.5、3 个月时创面肉芽组织的 TGF-β1 和 Smad3 的 mRNA 和蛋白水平。磷酸化 Smad3（Ser423/425）、TGF-β抗体分别购于美国 CST 和赛默飞公司。实验中使用的引物序列如下：TGF-β1-forward，5’-TTGCCGCCGGGGACG-3’和 reverse，5’-GATGCGCGGGGGCTC-3’；SMAD3-forward，5’-CCCTGCACTGCTGCCG-3’和 reverse，5’-GGCTCCCCCCTGCAA-3’；GAPDH-forward，5’-CATGGTTTACATGT-3’和 reverse，5’-GGCTC-CCCCCTGCAA-3’。

1.4　统计方法　采用 Excel 和 Prism 9.0 软件进行数据统计分析，计量资料以均数±标准差表示，采用 t 检验；计数资料采用 χ^2 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　两组临床疗效比较　观察组显效 31 例，有效 18 例，无效 4 例，总有效率 92.45%；对照组显效 15 例，有效 18 例，无效 20 例，总有效率 62.26%。两组临床疗效差异有统计学意义（$\chi^2=16.23$，$P < 0.05$）。

2.2　两组空腹血糖、餐后 2 h 血糖及 HbAlc 水平比较　治疗前，两组患者血糖、餐后 2 h 血糖及 HbAlc 水平差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$）。治疗后，观察组空腹血糖、餐后 2 h 血糖均低于对照组（均 $P < 0.05$），HbAlc 水平差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 2。

2.3　两组氧化应激指标比较　治疗前，两组患者血清 ROS、lipid-ROS、MDA 和 SOD 水平差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$）。治疗后，观察组外周血细胞 ROS、lipid-ROS、MDA 水平均低于对照组，SOD 水平高于对照组（均 $P < 0.05$），见表 3。

2.4　两组血清炎症因子水平比较　治疗前，两组血清 TNF-α、IL-6 和 hs-CRP 水平差异无统计学意义（均 $P > 0.05$）。治疗后，观察组血清 TNF-α、IL-6 和 hs-CRP 水平均低于对照组（均 $P < 0.05$），见表 4。

2.5　两组纤维化和内皮功能指标比较　治疗前，两组患者血清 VCAM-1 和 FGF-2 水平差异均无统计学意义（均 $P > 0.05$）。治疗后，观察组血清 VCAM-1 和 FGF-2 水平均低于对照组（均 $P < 0.05$），见表 5。

2.6　两组创面肉芽组织 TGF-β1 和 SMAD3 表达比较　治疗前，两组患者创面肉芽组织 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 和蛋白水平差异无统计学意义（均 $P > 0.05$）。治疗后 3 个月，观察组创面肉芽组织 TGF-β1 和磷酸化 Smad3 蛋白水平高于对照组，（均 $P <$

表 1　两组一般资料比较

指标		对照组（n=53）	观察组（n=53）
年龄（岁）		53.2±11.2	52.3±12.2
糖尿病足病程（d）		5.23±2.34	5.31±2.53
糖尿病病程（年）		5.89±2.44	5.71±2.78
性别（例）	男	37	35
	女	16	18
吸烟史（例）		17	19
程度（例）	轻度	32	30
	中度	21	23
糖化血红蛋白（%）		11.56±2.77	11.79±2.59
溃疡病灶（个）		61	59
清蛋白（g/L）		36.21±5.42	36.33±5.39
平均创面深度（cm）		1.12±0.21	1.09±0.33
平均创面面积（cm^2）		9.77±0.78	9.81±0.93
白细胞（$\times10^9$/L）		15.51±3.02	15.39±4.17

表 2　两组治疗前后血糖、HbAlc 水平比较

组别	例数	空腹血糖（mmol/L）		餐后 2 h 血糖（mmol/L）		糖化血红蛋白（%）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	53	11.83±3.76	7.68±1.73	16.03±4.90	10.35±3.56	8.91±1.15	8.15±1.56
观察组	53	11.92±3.81	7.01±1.74	16.17±4.42	9.02±3.11	8.87±1.23	7.65±1.31
t 值		0.12	1.99	0.15	2.05	0.17	1.79
P 值		＞ 0.05	＜ 0.05	＞ 0.05	＜ 0.05	＞ 0.05	＞ 0.05

Modern Practical Medicine, April 2024, Vol.36, No.4

0.05），见表 6。治疗后 3 个月，观察组创面肉芽组织 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 水平均高于对照组（均 $P<0.05$），且 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 水平随着治疗时间的增加而升高（均 $P<0.05$），见图 1。

2.7 创面组织 Smad3 和 TGF-β1 表达水平与血清 FGF-2 和 VCAM-1 水平的相关性 患者创面组织磷酸化 Smad3 和 TGF-β1 蛋白表达水平与血清 FGF-2 和 VCAM-1 水平呈显著负相关（均 $P<0.05$），见表 7。

3 讨论

糖尿病足是糖尿病患者常见并发症，临床表现为疼痛、足感染、溃疡及坏疽。目前，糖尿病足的临床治疗方式主要有控制血糖、改善微循环、抗感染等，该病具有较高的致残及致死率[7]。硫辛酸具备较好的抗氧化能力，能够清除自由基，阻止炎性反应发生，保护血管内皮功能，是糖尿病足治疗的临床一线药物，额外补充硫酸锌可增强糖尿病患对胰岛素的敏感性[8]。本研究结果显示，观察组总有效率为 92.59%，显著高于对照组的 61.11%（$P<0.05$），观察组患者空腹血糖和餐后 2 h 血糖水平均低于对照组（均 $P<0.05$），这表明硫辛酸联合踝泵运动可更好地改善糖尿病足患者的血糖水平和临床疗效。

SOD 能迅速分解有害自由基，将自由基转换为

表 3 两组氧化应激指标比较

组别	例数	ROS（平均荧光强度）		lipid-ROS（%）		MDA（nmol/ml）		SOD（U/ml）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	53	3 458.57±365.44	1 367.91±217.33	9.33±2.01	6.63±1.23	9.23±1.05	6.23±1.19	19.31±2.68	20.18±3.57
观察组	53	3 409.15±391.21	1 021.54±244.19	9.29±2.18	4.11±1.56	9.21±0.99	5.08±0.97	19.52±3.01	23.78±3.99
t 值		0.67	7.71	0.10	9.23	0.10	5.45	0.38	4.90
P 值		＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05

注：ROS 为通过活性氧，MDA 为血清丙二醛，SOD 为超氧化物歧化酶

表 4 两组血清炎症因子水平比较

组别	例数	TNF-α（pg/ml）		IL-6（pg/ml）		hs-CRP（mg/L）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	53	25.14±3.38	23.13±3.03	17.45±4.44	15.17±3.55	17.01±4.88	10.13±3.07
观察组	53	25.89±3.45	20.01±3.55	17.49±5.12	12.91±4.15	16.73±4.35	7.18±4.28
t 值		1.13	4.87	0.04	3.01	0.31	4.08
P 值		＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05

注：TNF-α为肿瘤坏死因子α，IL-6 为白细胞介素-6，hs-CRP 为超敏 C-反应蛋白

表 5 两组纤维化和内皮功能指标比较

组别	例数	VCAM-1（g/L）		FGF-2（ng/L）	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	53	1 315.17±324.56	1 145.87±201.78	15.89±4.19	12.67±2.98
观察组	53	1 356.16±307.18	859.16±214.90	15.48±4.61	9.17±3.11
t 值		0.67	7.08	0.48	5.92
P 值		＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05

注：VCAM-1 为血管细胞黏附分子-1，FGF-2 为纤维细胞生长因子-2

表 6 两组创面肉芽组织 TGF-β1 和 SMAD3 表达比较

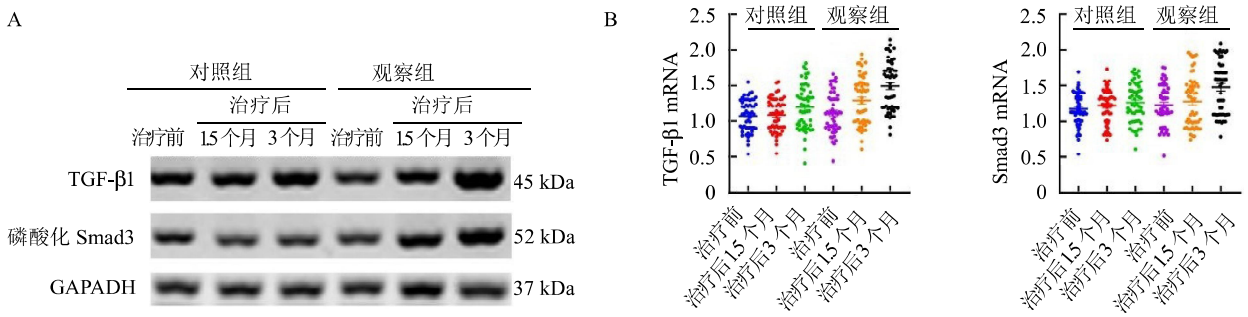
组别	例数	TGF-β1/GAPDH			磷酸化 Smad3/GAPDH		
		治疗前	治疗后 1.5 个月	治疗后 3 个月	治疗前	治疗后 1.5 个月	治疗后 3 个月
对照组	53	1.13±0.26	1.12±0.38	1.41±0.34	0.91±0.21	0.89±0.28	0.92±0.35
观察组	53	1.09±0.33	1.14±0.31	1.78±0.47	0.93±0.32	1.10±0.33	1.25±0.37
t 值		0.70	0.30	4.64	0.38	3.53	4.72
P 值		＞0.05	＞0.05	＜0.05	＞0.05	＜0.05	＜0.05

注：TGF-β1 为转化生长因子-β1

表 7 磷酸化 Smad3 和 TGF-β1 表达水平与血清 FGF-2 和 VCAM-1 水平相关性

指标	磷酸化 Smad3		TGF-β1	
	r 值	*P* 值	*r* 值	*P* 值
FGF-2	－0.701	＜0.05	－0.769	＜0.05
VCAM-1	－0.829	＜0.05	－0.731	＜0.05

注：TGF-β1 为转化生长因子-β1，VCAM-1 为血管细胞黏附分子-1，FGF-2 为纤维细胞生长因子-2



注：A 为 TGF-β1 和磷酸化 Smad3 蛋白的 western blot 检测结果；B 为 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 的 qPCR 检测结果

图 1　两组患者创面肉芽组织 TGF-β1、Smad3 蛋白和 mRNA 表达水平检测

无害的氧分子和水分子，消除组织细胞脂质过氧化；MDA 能反映膜脂质过氧化的程度[9]。本研究结果显示，治疗后，观察组外周血细胞 ROS、lipid-ROS、MDA 水平均低于对照组（均 $P < 0.05$），SOD 水平高于对照组（$P < 0.05$）。另外，观察组血清 TNF-α、IL-6 和 hs-CRP 水平均低于对照组（均 $P < 0.05$），这表明硫辛酸联合踝泵运动具备较好的抗脂质过氧化和抗炎性反应作用。

VCAM-1 广泛表达在活化平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞等表面，其能介导上述细胞黏附于血管内皮。VCAM-1 表达上升可损伤外周神经，并造成血管病变和诱导胰岛素抵抗。FGF-2 为血管生成属性的生长因子，其可下调糖基化修饰，促进 VCAM-1 的高表达，下调组织修复能力[10]。本研究结果显示，治疗后，观察组血清 VCAM-1 和 FGF-2 水平均低于对照组（均 $P < 0.05$）。TGF-β1 介导的 Smad 信号通路转导与创面修复密切相关，Smad3 与 Smad4 蛋白复合物能够转入胞核内并促进创面愈合相关靶基因的表达。磷酸化 Smad3 表达水平真实反应了 TGF-β1/Smad3 通路的激活强度。治疗后 3 个月，观察组创面肉芽组织 TGF-β1 和磷酸化 Smad3 蛋白水平均高于对照组（均 $P < 0.05$），观察组创面肉芽组织 TGF-β1 和 Smad3 mRNA 水平均高于对照组（均 $P < 0.05$），并且患者创面组织磷酸化 Smad3 和 TGF-β1 蛋白表达水平均与血清 FGF-2 和 VCAM-1 水平呈显著负相关，故硫辛酸联合踝泵运动可能通过调控 TGF-β1/Smad3 信号通路抑制 FGF-2 和 VCAM-1 等糖尿病足标志物的表达，最终促进创面修复。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

参　考　文　献

[1] 连红强,张丽蓉,赵常红.糖尿病腱病研究进展[J].生命科学,2023,35(10):1366-1371.

[2] 李江雁,毛小芳,赵利超,等.糖尿病足并发溃疡感染病原菌及其预测模型构建[J].中华医院感染学杂志,2023,33(17):2619-2623.

[3] 邱轩,陈雅洁,田思宇,等.α-硫辛酸升高血清硫化氢水平改善糖尿病周围神经病变的研究[J].中国糖尿病杂志,2022,30(10):728-732.

[4] 赵平,黄渝.硫辛酸联合踝泵运动干预治疗早期糖尿病足对患者血糖水平及血清 VCAM-1、FGF2 水平的影响[J].现代医学与健康研究(电子版),2020,4(22):9-11.

[5] GENG K, MA X M, JIANG Z H, et al. WDR74 facilitates TGF-β/Smad pathway activation to promote M2 macrophage polarization and diabetic foot ulcer wound healing in mice[J]. Cell Biol Toxicol, 2023, 39: 1577-1591.

[6] 杨小玲, 袁丽, 叶子溦, 等.《中国老年 2 型糖尿病防治临床指南(2022 年版)》健康综合评估内容解读[J]. 实用老年医学, 2022,36(11):1180-1184.

[7] 马静,刘焕宁,秦新愿,等.老年糖尿病足患者自我防护意识对并发症的影响[J].河北医药,2023,45(18):2851-2854.

[8] JAYANT P, ASHIMA T, SINGH J S F. Alpha lipoic acid and monoisoamyl-DMSA combined treatment ameliorates copper-induced neurobehavioral deficits, oxidative stress, and inflammation[J]. Toxics,2022,10(12):718.

[9] 王向阳,崔炎,张榜,等.基于氧化应激探讨中药单体治疗糖尿病足溃疡研究进展[J].中医学报,2023,38(9):1879-1886.

[10] 吴颖. 红外线治疗仪联合硫辛酸对糖尿病足患者血清 VCAM-1 和 rb-FGF2 及 TNF-α水平的影响[J].医疗装备,2021,34(14):58-59.

收稿日期：2023-12-21

（本文编辑：吴迪汉）