

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.18.008

文章编号: 1005-8982(2016)18-0039-05

论著

超敏 C 反应蛋白、内皮抑素在糖尿病 肢端坏疽早期病变中的诊断意义

胡银娥¹, 代淑芳¹, 刘扬²

(河南大学淮河医院 1. 皮肤科, 2. 糖尿病科, 河南 开封 475000)

摘要:目的 探讨超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、内皮抑素(ES)在糖尿病肢端坏疽早期病变(DG)中的诊断价值。**方法** 将 106 例 2 型糖尿病患者,按照是否出现糖尿病足分为单纯糖尿病组(DM 组)和糖尿病肢端坏疽早期病变组(DG 组),采用超敏乳胶增强散射比浊法测定 hs-CRP,ELISA 法测定 ES,检测其在 DG 中的诊断价值。**结果** DG 组自主神经病变(DAN)、下肢动脉管病变(LEAD)、微量尿蛋白(MAU)、踝肱指数(ABI)、低密度脂蛋白(LDL-C)、hs-CRP、血管内皮生长因子(VEGF)、ES 以及欧米诺变色开始时间、完全变色时间均高于 DM 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);Spearman 相关性分析发现,hs-CRP 与 DAN、LEAD、VEGF、ES、LDL-C 呈正相关 ($r = 0.486, 0.477, 0.505, 0.503$ 和 $0.473, P < 0.05$), 与 ABI 呈负相关 ($r = -0.488, P < 0.05$);ES 与 DAN、LEAD、VEGF、hs-CRP 呈负相关 ($r = -0.507, -0.501, -0.492$ 和 $-0.508, P < 0.05$), 与 ABI 呈负相关 ($r = 0.497, P < 0.05$);ES+hs-CRP 诊断在敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断准确率及 AUC 均高于 ES、hs-CRP 单独诊断。**结论** ES、hs-CRP 与 DG 以及合并有自主神经病变具有明显相关性,ES 联合 hs-CRP 对于 DG 具有较高的诊断价值。

关键词: 超敏 C 反应蛋白;内皮抑素;糖尿病肢端坏疽早期病变;诊断

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Significance of high-sensitivity C-reactive protein and endostatin in early diagnosis of diabetic gangrene

Yin-e Hu¹, Shu-fang Dai¹, Yang Liu²

(1. Department of Dermatology, 2. Department of Diabetes, Huaihe Hospital, Henan University, Kaifeng, Henan 475000, China)

Abstract: Objective To investigate the high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and endostatin (ES) in early diagnosis of diabetic limb gangrene (DG). **Methods** A total of 106 T2DM patients were divided into simple diabetic group (DM) and early diabetic gangrene group (DG group). hs-CRP was measured using ultra-sensitive latex-enhanced scattering immunoturbidimetric assay. ES was determined by ELISA. Their value in diagnosis of DG was detected. **Results** DAN, LEAD, MAU, ABI, LDL-C, hs-CRP, VEGF and ES levels in the DG group were higher than those of the DM group ($P < 0.05$). The Ou Mino discoloration started earlier and the complete discoloration time was longer in the DG group than in the DM group ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that hs-CRP was positively correlated with DAN, LEAD, VEGF, ES and LDL-C ($r = 0.486, 0.477, 0.505, 0.503$ and 0.473 , respectively; $P < 0.05$), but was in a negative correlation with ABI ($r = -0.488, P < 0.05$); ES was negatively correlated with DAN, LEAD, VEGF and hs-CRP ($r = -0.507, -0.501, -0.492$ and $-0.508; P < 0.05$), but positively correlated with ABI ($r = 0.497, P < 0.05$). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, diagnostic accuracy and AUC of the combination of ES and hs-CRP were higher than those of ES and hs-CRP alone in diagnosis of DG. **Conclusions** ES and hs-CRP have significant correlations with DG and autonomic neuropathy.

ES combined with hs-CRP has high diagnostic value for DG.

Keywords: high-sensitivity C-reactive protein; endostatin; early lesion of diabetic gangrene; diagnosis

糖尿病足及肢端坏疽为糖尿病并发症之一,为慢性微血管病变,也是导致糖尿病患者致残、致死的重要原因^[1]。临床已经证实^[2-3],超敏C反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein,hs-CRP)、内皮抑素(Endostatin,ES)与糖尿病下肢血管病变有密切关系,但是两者联合诊断糖尿病足及肢端坏疽早期病变(diabetic gangrene,DG)的研究报道较少,此外ES、hs-CRP与糖尿病肢端坏疽早期病变患者自主神经病变(diabetic autonomic neuropathy,DAN)的关系研究报道也较少。糖尿病足及肢端坏疽宜早诊断、早预防、早治疗^[4]。本研究旨在探讨ES、hs-CRP与糖尿病肢端坏疽、自主神经病变的关系,通过其联合检测从而提高糖尿病足肢端坏疽早期病变的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2011年4月-2015年6月于河南大学淮河医院皮肤科门诊、内分泌门诊以及住院部就诊的127例2型糖尿病患者。按照是否出现糖尿病足分为单纯糖尿病组(DM组)和糖尿病肢端坏疽早期病变组(DG组)。其中,DM组患者57例,男性34例,女性23例;DG组患者70例,男性50例,女性20例。糖尿病足诊断标准参照糖尿病足协作组诊断标准,按照中华医学会糖尿病学会第一届全国糖尿病足学术会议制定的有关“糖尿病足(肢端坏疽)”的诊断标准以及Wagner分级标准进行分级^[5],确诊为0~Ⅲ级即DG。患者中需要排除:糖尿病合并妊娠或者妊娠期糖尿病患者;近6个月内受过外伤或者手术治疗者;有感染性疾病者;因血液系统疾病、肿瘤或者肝、肾代谢疾病或者自身免疫性疾病患者。所有患者均签订知情同意书,并报医院伦理委员会审批执行。

1.2 研究方法

1.2.1 一般临床资料 采用本院统一制定的调查问卷,收集患者的性别、年龄、病程、身高、体重以及周围神经病变等一般临床资料,计算患者的体重指数(body mass index,BMI),仔细了解患者是否出现下肢感觉异常、下肢坏疽、间歇性跛行或者静息痛等症状。

1.2.2 血液标本的采集以及相关因子检测 受试者禁食12h后于次日清晨空腹采集肘静脉血5ml,分

离获得血清。24h微量尿蛋白(Microalbuminuria,MAU)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipid-cholesterol,HDL-C)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol,LDL-C)(日本日立公司,76002全自动生化指标分析仪)、空腹血糖(fasting plasma glucose,FPG)(放射免疫法)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1C,HbA1c)(高效液相色谱法,美国Bio-Rad公司,Variant II糖化血红蛋白检测器),ES、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)采用酶联免疫吸附试验法测定,超敏乳胶增强散射比浊法测定血清中hs-CRP,试剂由北京中杉生物技术公司提供。

1.2.3 踝肱指数(ankle brachial index,ABI)的测定 受试者取仰卧位,采用多普勒超声测定其双上肢肱动脉收缩压(其中差值在<10mmHg时取平均值,在>10mmHg时采用高值作为肱动脉收缩压)肱动脉收缩压、双下肢胫后动脉和足背动脉收缩压(取高值作踝动脉收缩压),按照公式:ABI=踝动脉收缩压/肱动脉收缩压。

1.2.4 患者足部自主神经病变(DAN)检查 采用欧米诺诊断贴膏(德国GmbH公司生产),根据产品说明,检测时需维持室温在20~25℃,检测前受试者需静息15min,脱去鞋袜5min后,将欧米诺诊断贴膏贴于患者双侧跖骨头I、II部位,记录贴膏由蓝色变成粉色时所需要的时间。其中正常健康人员均在10min内可以完成蓝色到粉色的转变,而10min内未变色或者部分变色者可以确定为阳性,即考虑为DAN。

1.2.5 患者下肢动脉管病变(lower extremity arterial disease,LEAD)检查 采用多普勒超声诊断仪(SONOS4500型,美国Aligent公司生产),探测受试者双侧股动脉、腘动脉、胫动脉、足背动脉,同时检测受试者下肢血管内径、内膜厚度以及血流频度等,以下指标中出现≥2项诊断异常者则为下肢血管病变,即:①动脉内-中膜厚度在>0.35mm则为动脉内中膜增厚;②出现弥漫性或者局部等回声光斑;③出现弥漫性或者局部强回声光斑;④下肢血管管腔狭窄。

1.3 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析,计量资

料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用 t 检验,计数资料用 χ^2 检验,非正态分布计量资料经对数转换后进行分析;采用多因素 Logistic 回归分析确定与 DG 密切相关的危险因素,采用 Spearman 分析 hs-CRP、ES 的影响因素,绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve,ROC) 确定 hs-CRP、ES 在糖尿病肢端坏疽中的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较

研究结果显示,DG 组男性比例、年龄、病程、DAN、LEAD、BMI、MAU、ABI、LDL-C、hs-CRP、VEGF、ES 以及欧米诺变色开始时间、完全变色时间均高于 DM 组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 1、表 2。

2.2 DG 危险因素分析

多因素 Logistic 回归分析显示,年龄、男性、病

表 1 两组患者临床研究资料结果比较

组别	男性比例 / %	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$) [†]	病程 / (年, $\bar{x} \pm s$)	LEAD 例(%)	BMI / (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	FPG / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	MAU / (mg/d, $\bar{x} \pm s$)	HbA1c / (% , $\bar{x} \pm s$)
DM 组	59.65(34/57)	51.36 \pm 6.68	5.39 \pm 2.36	12(21.05)	24.14 \pm 1.99	9.78 \pm 2.39	33.98 \pm 8.03	9.73 \pm 2.23
DG 组	71.43(50/70)	67.32 \pm 7.69	9.67 \pm 3.94	49(100.00)	29.73 \pm 2.48	8.96 \pm 2.31	41.09 \pm 7.87	8.96 \pm 1.99
t/χ^2 值	4.217	5.810	6.602	5.421	3.832	0.986	4.017	1.183
P 值	0.032	0.013	0.008	0.016	0.045	0.338	0.037	0.246

组别	DAN 例(%)	ABI ($\bar{x} \pm s$)	TC / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	TG / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	LDL-C / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	HDL-C / (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	hs-CRP / (mg/L, $\bar{x} \pm s$) [†]	VEGF / (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	ES / (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)
DM 组	9(15.79)	1.09 \pm 0.19	3.12 \pm 0.99	2.33 \pm 0.56	2.41 \pm 0.65	1.27 \pm 0.29	28.99 \pm 5.09	41.98 \pm 6.23	32.78 \pm 3.73
DG 组	41(83.67)	0.77 \pm 0.09	3.29 \pm 1.05	2.45 \pm 0.62	3.98 \pm 0.72	1.21 \pm 0.21	57.56 \pm 9.64	93.54 \pm 11.68	68.91 \pm 5.36
t/χ^2 值	10.184	3.964	1.103	0.893	4.164	0.761	8.826	9.382	11.124
P 值	0.001	0.041	0.306	0.228	0.040	0.435	0.001	0.001	0.001

注:† 对数转换

表 2 欧米诺贴膏变色时间比较 (min, $\bar{x} \pm s$)

组别	欧米诺贴膏开始变色时间		欧米诺贴膏完全变色时间	
	左足	右足	左足	右足
DM 组($n=57$)	2.31 \pm 0.54	2.39 \pm 0.61	24.24 \pm 3.89	25.13 \pm 4.16
DG 组($n=49$)	3.41 \pm 0.88	3.48 \pm 0.93	15.22 \pm 2.67	15.96 \pm 3.01
t 值	3.917	4.032	6.684	9.131
P 值	0.043	0.040	0.027	0.001

注:† 对数转换

表 3 DG 危险因素 Logistic 回归分析

指标	b	Sb	Wald χ^2	OR	95%CI		P 值
					下限	上限	
DAN	0.47	0.69	11.86	2.87	1.79	6.96	0.002
年龄	0.02	0.19	5.62	1.34	1.07	3.17	0.041
病程	0.02	0.21	6.74	1.54	1.11	2.98	0.039
男性	0.47	0.67	3.98	1.21	0.98	2.58	0.047
LEAD	0.44	0.64	16.44	3.11	1.69	13.89	0.000
MAU	0.81	0.98	4.57	1.68	1.21	3.65	0.041
ABI	-0.67	0.84	5.84	1.96	1.42	5.39	0.039
LDL-C	0.40	0.59	4.49	1.47	1.04	3.43	0.048
hs-CRP	0.50	0.69	13.22	2.96	2.03	11.85	0.000
VEGF	0.54	0.76	10.78	2.43	1.77	6.71	0.009
ES	0.60	0.76	11.34	2.76	1.81	8.49	0.005

程、DAN、LEAD、MAU、LDL-C、hs-CRP、VEGF 及 ES 为 DG 的危险因素,而 ABI 为其保护因素。见表 3。

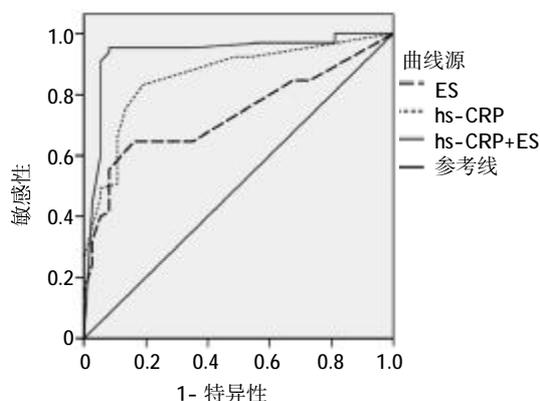
2.3 hs-CRP、ES 与 DG 危险因素的关系

采用 Spearman 相关性分析发现,hs-CRP 与 DAN、LEAD、VEGF、ES、LDL-C 呈正相关($r=0.486$ 、 0.477 、 0.505 、 0.503 和 0.473 , $P<0.05$),与 ABI 呈负相关($r=-0.488$, $P<0.05$);ES 与 DAN、LEAD、VEGF、hs-CRP 呈负相关($r=-0.507$ 和 -0.501 , -0.492 和 -0.508 , $P<0.05$),与 ABI 呈负相关($r=0.497$, $P<0.05$)。

2.4 hs-CRP、ES 对 DG 的诊断效能

通过绘制 ROC 曲线得出,Youden 指数在最大时,ES、hs-CRP 临界值分别为 16.36 ng/ml、50.27 mg/L,其中 ES+hs-CRP 诊断在敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、诊断准确率及 AUC 均高于 ES、

hs-CRP 单独诊断。ROC 曲线 AUC 显示,ES+hs-CRP 的 AUC 为 0.915,高于 ES、hs-CRP (AUC=0.834 和 0.724, $P<0.05$),见附图和表 4。



附图 ES、hs-CRP 诊断 DG 的 ROC 曲线分析

表 4 ES、hs-CRP 对 DG 诊断结果比较 %

检测指标	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	诊断准确率	Youden 指数	AUC 统计量	P 值	95%CI		诊断临界值
									下限	上限	
ES/(ng/ml)	76.4	86.6	91.3	82.9	80.3	0.654	0.724	0.003	0.649	0.827	16.36
hs-CRP/(mg/L)	79.7	90.3	93.4	78.7	83.2	0.736	0.834	0.000	0.749	0.897	50.27
ES+hs-CRP	85.6	93.9	96.9	84.2	86.9	0.801	0.915	0.000	0.820	0.928	

3 讨论

肢端坏疽是 DM 较为常见的并发症之一,其多发生于已有明显的肢端病变、血管并发症、感染以及代谢紊乱等患者,其为糖尿病足发展到一定严重阶段和特有的临床表现,也是导致 DM 患者致残、致死的重要原因。有报道指出,在我国糖尿病肢端坏疽的发病率在 2.6%左右,而其中 40.0%的患者采取截肢手术,而且随着患者感染以及血管病变导致缺血的加重,患者的累积病死率明显增高^[9]。目前对于糖尿病足以及肢端坏疽的发病机制尚无统一定论,其发病机制可能与机体内分泌代谢紊乱、内皮细胞受损、血小板聚集、黏附能力增强以及血液流变学异常等有关。通过本研究显示,49 例糖尿病肢端坏疽患者均存在下肢血管病变,为 100.00%,说明下肢血管病变可能为导致肢端坏疽的关键原因,而糖尿病下肢血管病理改变主要是动脉粥样硬化,早期表现为血管内膜增厚以及血管内皮受损等。有报道证实^[10],糖尿病下肢血管病变与自主神经功能障碍有关,糖尿病下肢血管病变可能与下肢动脉粥样硬化、微血管病变等有关。通过本研究发现,DG 患者自主神经病变患者例数明

显高于 DM 患者,此外,欧米诺贴膏也证实,DG 患者开始变色时间以及完全变色时间均明显长于 DM 患者,这也从侧面证实糖尿病肢端坏疽存在明显的自主神经病变。

hs-CRP 是一种急性时相性因子,其在正常机体内浓度较低,当出现细菌感染或严重创伤、烧伤导致的炎症反应过度表达时,其术后的浓度显著升高,其不易受到贫血或者药物等外界影响,从而稳定表达,其在评价动脉粥样硬化等心血管疾病时相对于 CRP 更敏感。目前,认为 hs-CRP 在 DM 下肢血管病变中浓度增高的原因有:①炎症因素。血管内皮受损是动脉粥样硬化的启动步骤,长期慢性炎症因子刺激血管平滑肌细胞增殖,血管内壁增厚;②胰岛素抵抗以及高血糖。DM 患者血糖浓度明显增高,导致血管壁通透性增加、而胰岛素抵抗导致机体合成 CRP 增高;③CRP 摄取 LDL-C 等刺激因子,导致下肢动脉血管粥样硬化的发生^[9]。本研究证实,DG 患者 hs-CRP 明显高于 DM 患者,且多因素分析其与 DG 明显相关,这也印证多数学者认为的 hs-CRP 与糖尿病的发生、发展密切相关。

ES 是在小鼠血管内皮细胞瘤上清液中分离出的

一种具有抑制血管再生的蛋白质,具有抑制 VEGF 等血管新生因子的表达,与 VEGF 共同调控血管新生过程,是目前已知的最为有效的血管新生抑制因子之一^[9],有报道指出^[10],ES 在糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的发生、发展中起着重要作用。ES 在 DN、DR 病变发展中与 VEGF 变化趋势一致,其可能为机体自身代偿性保护机制进行调节达到新的平衡所致,但是随着病情的发展,其成为 DN 进一步恶化的代谢产物。糖尿病足及肢端坏疽是糖尿病慢性微血管病变。通过本研究证实,ES 在 DG 中明显增高,多因素回归分析显示,其与糖尿病肢端坏疽呈正相关,说明其与糖尿病肢端坏疽有明显相关性。

需要说明的是,目前临床和基础实验证实 hs-CRP、ES 与糖尿病下肢血管病有关,糖尿病足及肢端坏疽宜早诊断、早预防和早治疗,通过本研究可以看出 hs-CRP、ES 不仅与 DG 有显著相关,而且与自主神经病变、下肢血管病变等有相关性。此外,通过 ROC 曲线进一步证实,ES、hs-CRP 联合诊断 DG 时有更高的敏感性和特异性,因此建议在诊断糖尿病足及肢端坏疽时,建议联合诊断 ES、hs-CRP 水平,从而尽早诊断糖尿病足及肢端坏疽的发生,以便尽早治疗。

参 考 文 献:

- [1] ZACHARY T B. Diabetes: east meets west, the joint American association of clinical endocrinologists-Chinese society of endocrinology(AACE-CSE) symposium[J]. J Diabetes, 2012, 4(3): 221-226.
- [2] MU Y X, YAN R Q, HU X Y, et al. Levels of serum superoxide dismutase and high sensitive C-reactive protein in type 2 diabetic patients with lower extremity vascular disease are enhanced by interventional treatment[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(1): 1540-1545.
- [3] 段薇,张锦,张学梅,等. 内皮抑素和血管内皮生长因子与 2 型糖尿病大血管病变的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(9): 799-801.
- [4] KHALID A R, MOHAMMAD A D, SAMIR OUIZI, et al. Diabetic foot complications and their risk factors from a large retrospective cohort study[J]. PLoS One, 2015, 10(5):DOI: 10.1371/journal.pone.0124446.
- [5] 李仕明. 糖尿病足(肢端坏疽)检查方法及诊断标准(草案)[J]. 中国糖尿病杂志, 1996, 4(2): 126-127.
- [6] 蔡惠群,樊建开. 温通散对 DG 的影响 [J]. 河北中医, 2004, 26(10): 727-729.
- [7] 谢新荣,马春苏,欧玉明,等. 2 型糖尿病患者足部自主神经功能与下肢动脉血管病变相关性的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2013, 21(3): 246-248.
- [8] FIKRI R, BICKNELL C D, BLOOMFIELD L M, et al. Awaiting autoamputation: a primary management strategy for toe gangrene in diabetic foot disease[J]. Diabetes Care, 2011, 34(8): DOI: 10.2337/dc11-0848.
- [9] URBONAVICIENE G, SHI G P, URBONAVICIUS S, et al. Higher cystatin C level predicts long-term mortality in patients with peripheral arterial disease[J]. Atherosclerosis, 2011, 216(2): 440-445.
- [10] DODD T, WIGGINS L, HUTCHESON R, et al. Impaired coronary collateral growth in the metabolic syndrome is in part mediated by MMP12-dependent production of endostatin and angiostatin[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(6): 1339-1349.

(张蕾 编辑)