

• 临床检验研究论著 •

257 例不同 Wagner 分级糖尿病足患者溃疡面病原菌及血清细胞因子水平检测

张 蓓

(西安交通大学医学院附属红会医院检验科, 陕西西安 710054)

摘要:目的 明确不同 Wagner 分级糖尿病足患者溃疡面病原菌特点并进行血清细胞因子水平比较。方法 选择糖尿病合并糖尿病足的患者 257 例, 根据病情分为 Wagner 1、2、3 级。选取无糖尿病的健康体检者 45 例为对照组。对糖尿病足患者进行溃疡面细菌培养并检查上述 4 组人群血清细胞因子水平。结果 Wagner 1 级患者感染以革兰阳性菌为主, 2 级患者革兰阳性菌感染占 49.4%, 3 级患者革兰阴性菌感染占优势。1 级患者内皮素(ET)、血管内皮生长因子(VEGF)水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 内脂素、抵抗素、瘦素与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。2 级患者 ET、胰岛素样生长因子(IGF-1)、VEGF、内脂素、抵抗素水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。3 级患者 ET、IGF-1、VEGF 水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 与 1 级患者比较差异有统计学意义($P < 0.05$), VEGF 水平较 2 级患者低($P < 0.05$), 内脂素、抵抗素、瘦素水平与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 随着 Wagner 分级的进展, 溃疡面感染以革兰阴性菌占优势且伴随着脂质代谢及内皮功能相关细胞因子紊乱的加重。

关键词:糖尿病足; 足溃疡; 细胞因子类

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)01-0031-03

Detection of pathogen characteristics and cytokine levels in 257 cases diabetic foot of different Wagner grade

Zhang Bei

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Red Cross Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710054, China)

Abstract: Objective To evaluate pathogen characteristics and cytokine levels in diabetic foot of different Wagner grade and cytokine levels. Methods 257 diabetic patients with diabetic, were divided into level Wagner 1, 2 and 3 45 cases of the normal population without diabetes was selected as the control group. Bacterial cultures were done, and serum cytokine levels in patients with diabetic foot ulcers were detected. Results Wagner 1 level patients infected with G⁺ bacteria-based, level 2 patients the G⁺ bacterial infections accounted for 49.4%, and level three patients with G⁻ bacteria infection were dominant. In level 1 patients, the ET and VEGF showed significantly different ($P < 0.05$) compared with the control group, while visfatin, resistin and leptin showed no difference ($P > 0.05$). In level two patients, the ET, IGF-1, VEGF, visfatin, resistin and leptin, compared with the control group, showed statistically different ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$). In level three patients, the ET, IGF-1, VEGF, visfatin, resistin and leptin showed statistically significantly different with the control group ($P < 0.01$). And there was statistical difference compared with level 1 patients ($P < 0.05$), VEGF significantly decreased compared with level two patients ($P < 0.05$). Conclusion With the progress of Wagner classification, ulcers infected with G⁻ bacteria is predominate, and accompanies by the aggravation of related cytokines disorders of lipid metabolism and endothelial function.

Key words: diabetic foot; foot ulcer; cytokines

随着生活方式的改变与饮食结构的变化, 2 型糖尿病的发生率逐年上升。由于患者对糖尿病认知不足, 糖尿病下肢动脉病变及其导致的糖尿病足有较高的发生率^[1], 轻者可出现下肢坏疽和局部溃疡形成。若治疗不及时, 患者将面临着截肢的风险^[2], 这对患者的生活质量造成极大的影响。由于临床滥用抗菌药物及致病菌新的耐药基因的出现, 导致糖尿病足的致病菌种类发生了变化^[3]。内脂素、瘦素及抵抗素是近几年发现的脂肪细胞因子, 参与体内能量代谢、血管炎性反应, 与体内脂代谢及胰岛素抵抗密切相关。胰岛素样生长因子(IGF-1)、血管内皮生长因子(VEGF)等细胞因子在糖尿病足血管及神经病变的发生及发展方面具有重要意义, 不同细胞因子之间形成的网络是糖尿病足发生的基础^[4]。笔者对 2011 年 1 月至 2013 年 1 月就诊于本院的不同 Wegner 分级的糖尿病足患者糖尿病足溃疡面临床样品进行了细菌培养, 并分析了血清细胞因子

水平, 初步探讨了 Wegner 分级与血清学指标的相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 1 月至 2013 年 1 月期间到本院就诊的 2 型糖尿病合并糖尿病足患者 257 例, 年龄 42~73 岁, 糖尿病病程 4~12 年。入选患者均符合 WHO 糖尿病及糖尿病足的诊断和分级标准, 进行了 Wagner 分级, 分级标准如下^[5], 0 级: 有发生足溃疡危险因素但目前无溃疡发生; 1 级: 足部出现表面溃疡但临床上无感染发生; 2 级: 较深的溃疡, 常合并软组织炎但无脓肿或骨的感染; 3 级: 深度感染, 伴有骨组织病变或脓肿; 4 级: 局限性坏疽(趾、足跟或前足背); 5 级: 全足坏疽。本次入选病例为 1、2、3 级。其中 1 级患者 91 例, 2 级患者 87 例, 3 级患者 79 例。同时选择健康体检的人群 45 例为对照组。

1.2 方法

1.2.1 细菌培养及鉴定 所有入选患者均于溃疡面的深部取材。对溃疡周围腐肉进行清除后,用无菌生理盐水冲洗 3 遍,使用无菌器械于溃疡深部取样后置入无菌运送管,半小时内运送至检验科微生物实验室,血琼脂平板接种后置于 35 ℃ 温箱培养,24 h 后细菌鉴定采用 BBL Crystal 细菌鉴定系统与手工鉴定相结合的方式对细菌进行鉴定。

1.2.2 ET、IGF-1、VEGF 测定 所有研究对象均于入选后次日早晨抽取静脉血 5 mL,静置 30 min 后离心,取血清留存待检。观察组患者术前及对对照组研究对象均采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 ET、IGF-1、VEGF,试剂由武汉晶美公司提供。

1.2.3 血清内脂素、抵抗素、瘦素检测 所有入选对象分别于入选后次日清晨取空腹静脉血 4 mL,静置 30 min 后离心,取血清-70 ℃ 保存待检。血清内脂素采用 ELISA 法检测,内脂素(visfatin)、抵抗素(resistin)瘦素(leptin)ELISA Kit 购置于美国 RD 公司。检验由本院检验科完成,严格遵守操作规程并在有效期内使用。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 细菌培养及鉴定结果 对 3 组患者的细菌培养情况进行分析,Wagner 1 级患者感染以革兰阳性菌为主,约占 62.6%;2 级患者革兰阳性菌感染占 49.4%;3 级患者革兰阴性菌感染占优势,占 60.7%。提示随分级的增高及病情的价值,菌群呈现出以革兰阴性为主的特点。革兰阳性菌感染者中表皮葡萄球菌及金黄色葡萄球菌多见,革兰阴性菌以绿脓杆菌及肠杆菌多见,1 级 2 级 3 级患者中革兰阳性菌感染以表皮葡萄球菌为主,革兰阴性菌以肠杆菌占优势,见表 1。

表 1 各组细菌培养及鉴定结果(n)

组别	1 级	2 级	3 级
合计	91	87	79
革兰阳性菌	57	43	31
表皮葡萄球菌	25	21	14
金黄色葡萄球菌	22	16	12
其他	10	6	5
革兰阴性菌	36	44	48
绿脓杆菌	12	13	15
肠杆菌	17	26	28
其他	7	5	5

2.2 细胞因子水平比较 对 4 组患者的 ET、IGF-1、VEGF 进行分析,1 级患者 ET、VEGF 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);2 级患者 ET、IGF-1、VEGF 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);3 级患者 ET、IGF-1、VEGF 与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),与 1 级患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),VEGF 较 2 级患者出现显著下降($P < 0.05$),见表 2。

2.3 两组脂肪因子水平检测 对 4 组患者的内脂素、抵抗素、瘦素进行分析,1 级患者内脂素、抵抗素、瘦素与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$);2 级患者内脂素、抵抗素与对照组

比较差异有统计学意义($P < 0.05$);3 级患者内脂素、抵抗素、瘦素与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),与 1 级患者相比,两组内脂素、抵抗素差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 细胞因子水平比较

组别	n	ET(ng/L)	IGF-1(ng/mL)	VEGF(pg/mL)
1 级组	91	5.73±0.94*	74.59±13.48	135.42±23.48*
2 级组	87	6.25±1.36**	59.62±11.75*	113.58±27.59*
3 级组	79	8.68±1.23**#	45.29±9.40**#	79.83±26.38**#△
对照组	45	3.25±0.23	89.38±10.47	178.46±36.17

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$,与对照组比较; #: $P < 0.05$,与 1 级组比较; △: $P < 0.05$,与 2 级组比较。

表 3 脂肪因子水平检测

组别	n	内脂素(ng/mL)	抵抗素(ng/mL)	瘦素(μ g/L)
1 级组	91	7.72±1.91	6.84±1.76	12.74±2.72
2 级组	87	6.06±1.28*	8.59±1.25*	13.53±3.48
3 级组	79	5.29±1.37*#	9.37±1.94*#	15.84±3.84*△
对照组	45	8.68±1.23	5.39±1.40	10.46±1.17

*: $P < 0.05$,与对照组比较; #: $P < 0.05$,与 1 级组比较; △: $P < 0.05$,与 2 级组比较。

2.4 细胞因子与脂肪因子相关性分析 分析细胞因子与脂肪因子相关性,结果显示内脂素与 ET、VEGF 相关($P < 0.05$),抵抗素与 IGF-1、VEGF 呈负相关($P < 0.05$),瘦素与 IGF-1、VEGF 呈负相关($P < 0.05$),见表 4。

表 4 细胞因子与脂肪因子相关性分析

项目	统计值	ET	IGF-1	VEGF
内脂素	<i>r</i>	-0.397	0.206	0.417
	<i>P</i>	<0.05	>0.05	<0.05
抵抗素	<i>P</i>	0.234	-0.423	-0.387
	<i>P</i>	>0.05	<0.05	<0.05
瘦素	<i>r</i>	0.250	-0.352	-0.369
	<i>P</i>	>0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

随着糖尿病发病率的增高以及老龄化的加剧,以糖尿病足为代表的糖尿病并发症引起了广泛的重视,糖尿病足的症状和体征因病程和病变严重程度的不同而不同。轻者只有脚部微痛、皮肤表面溃疡;中度者可以出现较深的穿透性溃疡合并软组织炎;严重者在溃疡同时合并软组织脓肿、骨组织病变,脚趾、脚跟或前脚背局限性坏疽,甚至可以出现全脚坏疽^[6]。目前多认为糖尿病足的发生与患者体内细胞因子水平异常有关,内皮功能失调等可导致血管病变的发生。同时,临床上较多的患者同时合并肥胖,往往存在体内脂代谢及脂肪因子代谢的紊乱,内脂素、抵抗素、瘦素等脂肪因子的正常分泌可维持体内能量代谢、脂代谢的平衡。近年来,脂肪因子与脂代谢的相关性成为了新的研究热点^[7],但目前对以上细胞因子与不同 Wagner 分级的关系尚不明确,因此有必要进行相关研究。

由本研究可以看出, Wagner 1 级患者感染以革兰阳性菌为主,约占 62.6%,2 级患者革兰阳性菌感染占 49.4%,3 级患

者革兰阴性菌感染占优势,占 60.7%。提示随分级的增高,菌群呈现出以革兰阴性为主的特点。革兰阳性菌感染者中表皮葡萄球菌及金黄色葡萄球菌多见;革兰阴性菌以绿脓杆菌及肠杆菌多见;1、2、3 级患者中革兰阳性菌感染以表皮葡萄球菌为主,革兰阴性菌以肠杆菌占优势。对 4 组患者的 ET、IGF-1、VEGF 进行分析,1 级患者 ET、VEGF 与对照组比较差异有统计学意义;2 级患者 ET、IGF-1、VEGF 与对照组比较差异具有统计学意义;3 级患者 ET、IGF-1、VEGF 与对照组比较差异有统计学意义,与 1 级患者比较差异具有统计学意义,VEGF 较 2 级患者出现显著下降。对 4 组患者的内脂素、抵抗素、瘦素进行分析,1 级患者内脂素、抵抗素、瘦素较对照组虽有变化但差异无统计学意义;2 级患者内脂素、抵抗素与对照组比较差异有统计学意义;3 级患者内脂素、抵抗素、瘦素与对照组比较均差异有统计学意义,与 1 级患者相比,两组内脂素、抵抗素差异具有统计学意义。VEGF 被认为是促进血管形成的先决条件,在促进血管内皮细胞生长方面具有高度特异性,但糖尿病患者多存在内皮功能受损,这样 VEGF 下降密切相关。IGT-1 具有与胰岛素类似的作用,其浓度的降低可导致神经细胞再生修复的障碍,从而导致糖尿病足的发生、发展^[8]。内脂素、抵抗素、瘦素等脂肪因子的正常分泌可维持体内能量代谢、脂代谢的平衡,但糖尿病患者中脂肪因子代谢的紊乱^[9],有可能对细胞因子代谢产生影响^[10]。分析细胞因子与脂肪因子相关性,结果显示内脂素与 ET、VEGF 显著相关,抵抗素与 IGF-1、VEGF 显著负相关,瘦素与 IGF-1、VEGF 显著负相关。由本研究可以看出,细胞因子及脂肪因子并非孤立存在,随着 Wagner 分级的增加,患者感染病原体以革兰阴性菌占优势且伴随着脂质代谢及内皮功能相关细胞因子紊乱的加重,细胞因子网络的紊乱会导致信号通路的改变,进而对脂质代谢产生影响,这最终会影响到局部血管及神经病变,加速糖尿病足的发生,进而在病情的严重程度及致病菌类型上表现出不同的特点。

综上所述,不同 Wagner 分级的 2 型糖尿病所致糖尿病足溃疡患者,溃疡面的致病菌存在不同,且随着病情加重,患者存在细胞因子代谢的紊乱,这为糖尿病足的恢复带来较为严重的干扰。因此,有必要在诊疗过程中注意相关细胞因子的变化,

为改善糖尿病足的预后提供新的诊疗思路。

参考文献

[1] 申红霞. 糖尿病足下肢动脉病变的诊断及介入治疗进展[J]. 国外医学:医学地理分册, 2011, 32(4): 288-290.

[2] Xu L, Qian H, Gu J, et al. Heart failure in hospitalized patients with diabetic foot ulcers: clinical characteristics and its relationship to prognosis[J]. J Diabetes, 2013, 28(1): 218-224.

[3] Sun JH, Tsai JS, Huang CH, et al. Risk factors for lower extremity amputation in diabetic foot disease categorized by Wagner classification[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 95(3): 358-363.

[4] Shanmugam PMJ, Susan SL. The bacteriology of diabetic foot ulcers, with a special reference to multidrug resistant strains[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(3): 441-445.

[5] Peotter J, Neiderer KM, Walters JL, et al. Ewing sarcoma in a diabetic male with history of foot ulceration[J]. J Foot Ankle Surg, 2013, 28(1): 179-217.

[6] Nagoba BS, Gandhi RC, Wadher BJ, et al. A simple and effective approach for the treatment of diabetic foot ulcers with different Wagner grades[J]. Int Wound J, 2010, 7(3): 153-158.

[7] Malone M, Bowling FL, Gannass A, et al. Deep wound cultures and bone biopsy in diabetic foot osteomyelitis[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2013, 28(1): 101-106.

[8] Korkmaz M, Erdogan Y, Balci M, et al. Preoperative medical treatment in patients undergoing diabetic foot surgery with a Wagner Grade-3 or higher ulcer: a retrospective analysis of 52 patients[J]. Diabet Foot Ankle, 2012, 3, 2(2): 172-176.

[9] Healy A, Naemi R, Chockalingam N. The effectiveness of footwear as an intervention to prevent or to reduce biomechanical risk factors associated with diabetic foot ulceration: a systematic review[J]. J Diabetes Complications, 2013, 12(2): 135-142.

[10] Elgzyri T, Larsson J, Thorne J, et al. Outcome of ischemic foot ulcer in diabetic patients who had no invasive vascular intervention [J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2013, 28(1): D5486.

(收稿日期: 2013-08-16)

(上接第 30 页)

疾病有关,即尿酸水平仅能作为一个间接反映肾功能及人体自身氧化应激能力的指标而不能作为直接反映预后情况的指标^[10]。目前尚无将尿酸水平直接作为预后判断指标的案例。

参考文献

[1] 杜利君. 尿酸与血管内皮损伤关系的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(2): 204-205, 221.

[2] 吕世进, 王锦权, 陶晓根, 等. 重症患者医院获得性急性肾损伤的临床研究[J]. 临床肾脏病杂志, 2010, (3): 460-463.

[3] Lazaros G, Tsiachris D, Aznaouridis K, et al. Uric acid in-hospital changes predict mortality in patients with acute myocardial infarction[J]. Nut Metabo Cardio Dis, 2013, (20): 2143-2145.

[4] 王瑜敏, 陈洁, 王晓慧, 等. 高尿酸血症与血脂异常相关性[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(1): 16-17.

[5] Bartziokas K, Papaioannou AI, Loukides S, et al. Serum uric acid on COPD exacerbation as predictor of mortality and future exacerbations[J]. Euro Respira J, 2013, 1(2): 147-148.

[6] Kiran R, Scorsone E, Mailley P, et al. Quasi-real time quantification of uric acid in urine using boron doped diamond microelectrode with in situ cleaning[J]. Anal Chem, 2012, 84(23): 10207-10213

[7] 彭俊琼, 袁俊杰. 肾脏尿酸转运体对调节尿酸的影响及尿酸在氧化应激中的双重作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2011, 27(11): 862-865.

[8] Darmon M, Guichard I, Vincent F, et al. Prognostic significance of acute renal injury in acute tumor lysis syndrome [J]. Leukem Lymph, 2010, 51(2): 221-227.

[9] Zhu H, Cao R. The relationship between serum levels of uric acid and prognosis of infection in critically ill patients[J]. World, 2012, 3(3): 186-190.

[10] 李红丽. 低尿酸血症的症相关病因研究[J]. 中华肾脏病杂志, 2013, 6(1): 9-10.

(收稿日期: 2013-10-22)