

血清 Hcy、CysC、RBP 及尿足细胞联合检测 对2型糖尿病肾病早期诊断的临床价值

徐晏玲¹,艾禾²,漆丹平³

1.成都市双流区中医医院内科,四川 成都 610200;

2.成都市中西医结合医院科教部,四川 成都 610041;

3.成都市双流区中医医院检验科,四川 成都 610200

【摘要】目的 探究血清同型半胱氨酸(Hcy)、胱抑素C(Cys C)、视黄醇结合蛋白(RBP)及尿足细胞联合检测对2型糖尿病肾病早期诊断的临床价值。**方法** 选择成都市双流区中医医院2019年1月至2020年8月间收治的58例2型糖尿病肾病早期患者作为A组,同时选取我院收治的58例单纯糖尿病患者作为B组,同时期在我院体检的健康者58例作为C组。检测并比较三组受检者的血清Hcy、CysC、RBP及尿足细胞水平,并采用受试者工作特征(ROC)曲线评价Hcy、CysC、RBP、尿足细胞单一检测和联合检测诊断的敏感性。**结果** A组患者的血清Hcy、CysC、RBP、尿足细胞水平分别为(21.2 ± 3.5) μmol/L、(1.8 ± 0.3) mg/L、(3.1 ± 0.7) mg/L、(2.8 ± 0.8) 个/μL,均明显高于B组[(19.7 ± 2.8) μmol/L、(1.5 ± 0.2) mg/L、(2.6 ± 0.5) mg/L、(2.3 ± 0.6) 个/μL]及C组[(11.7 ± 1.9) μmol/L、(0.7 ± 0.1) mg/L、(0.8 ± 0.1) mg/L、(0.7 ± 0.1) 个/μL],且B组患者的血清Hcy、CysC、RBP、尿足细胞水平明显高于C组,差异均具有统计学意义($P<0.05$);将A组和B组进行研究,以肾小球滤过率<90 mL/min作为2型糖尿病肾病诊断切点,ROC分析结果显示,血清Hcy、CysC、RBP及尿足细胞诊断最佳切点分别为 20.81 μmol/L、 1.75 mg/L、 2.91 mg/L以及 2.73 个/μL,各项指标检测结果显示,Hcy、CysC、RBP和尿足细胞检测的诊断敏感性分别为58.2%、80.8%、79.3%、和62.5%,四者联合检测的诊断敏感性为91.7%。**结论** 2型糖尿病患者在出现肾损伤时,血清Hcy、CysC、RBP及尿足细胞水平明显升高,四者联合检测有助于提高2型糖尿病肾病患者早期诊断敏感性,值得推广应用。

【关键词】 2型糖尿病肾病;同型半胱氨酸;胱抑素C;视黄醇结合蛋白;尿足细胞;诊断价值

【中图分类号】 R587.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2021)22—2907—03

Clinical value of combined detection of serum Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes for early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. XU Yan-ling¹, AI He², QI Dan-ping³. 1. Department of Internal Medicine, Chengdu Shuangliu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610200, Sichuan, CHINA; 2. Ministry of Science and Education, Chengdu Integrated TCM&Western Medicine Hospital, Chengdu 610041, Sichuan, CHINA; 3. Department of Clinical Laboratory, Chengdu Shuangliu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610200, Sichuan, CHINA

[Abstract] **Objective** To explore the clinical value of combined detection of serum homocysteine (Hcy), cystatin C (Cys C), retinol binding protein (RBP), and uropodocytes for early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy. **Methods** Fifty-eight patients with type 2 diabetic nephropathy admitted to Chengdu Shuangliu Hospital of Traditional Chinese Medicine from January 2019 to August 2020 were selected as group A, 58 patients with simple diabetes were selected as group B, and 58 healthy persons who were undergoing physical examination in the hospital during the same time were selected as group C. The serum levels of Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes were detected and compared in the three groups, and receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the sensitivity of single and combined detection of Hcy, CysC, RBP and uropodocytes. **Results** The serum levels of Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes in group A were significantly higher than those in group B and group C, i.e. Hcy (21.2 ± 3.5) μmol/L vs (19.7 ± 2.8) μmol/L and (11.7 ± 1.9) μmol/L, CysC (1.8 ± 0.3) mg/L vs (1.5 ± 0.2) mg/L and (0.7 ± 0.1) mg/L, RBP (3.1 ± 0.7) mg/L vs (2.6 ± 0.5) mg/L and (0.8 ± 0.1) mg/L, uropodocytes (2.8 ± 0.8) pcs/μL vs (2.3 ± 0.6) pcs/μL and (0.7 ± 0.1) pcs/μL, and the levels of Hcy, CysC, RBP and uropodocytes in group B were significantly higher than those in group C; all differences were statistically significant ($P<0.05$). Comparing group A and group B and using glomerular filtration rate <90 mL/min as the diagnosis cut-off point for type 2 diabetic nephropathy, ROC analysis showed that the best cut-off points for the diagnosis with serum Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes was respectively 20.81 μmol/L, 1.75 mg/L, 2.91 mg/L, and 2.73 cells/μL. The single diagnostic sensitivity of Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes was 58.2%, 80.8%, 79.3%, and 62.5%, respectively, and the combined detection of the four had a diagnostic sensitivity of 91.7%. **Conclusion** The serum levels of Hcy, CysC, RBP, and uropodocytes in type 2 diabetic patients with renal injury are significantly increased. The combined detection of the four can help improve the sensitivity of early diagnosis of type 2 diabetic nephropathy, which is worthy of popularization and application.

[Key words] Type 2 diabetic nephropathy; Homocysteine; Cystatin C; Retinol binding protein; Uropodocytes; Diagnostic value

糖尿病是临床常见疾病,肾损伤是糖尿病患者最重要的合并症,也是导致患者进展为终末期肾脏病的主要因素之一^[1-2]。研究表明,糖尿病患者一旦进展至终末期肾脏病,会由于机体代谢紊乱,在治疗上比其他肾脏疾病的治疗更加困难,因此2型糖尿病肾病患者早期确诊治疗对提高患者生存率,延缓疾病进展有着重要意义^[3]。目前有研究发现,糖尿病肾病患者疾病的发生与进展与氧化应激、炎症反应等存在一定联系,而血清同型半胱氨酸(Hcy)、胱抑素C(Cys C)、视黄醇结合蛋白(RBP)与机体氧化应激及炎症反应有关,并且尿足细胞是肾小球滤过屏障的主要组成细胞,因此对Hcy、Cys C、RBP以及尿足细胞的检测有助于判断患者病情进展情况,具有重要临床诊断价值。本文旨在进一步探讨Hcy、Cys C、RBP及尿足细胞联合检测对2型糖尿病肾病早期诊断的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择成都市双流区中医医院2019年1月至2020年8月间收治的2型糖尿病肾病早期患者58例作为A组,同时选取我院收治的58例单纯糖尿病患者作为B组,糖尿病患者均符合1999年WHO指定的2型糖尿病相关诊断标准,排除合并急慢性肾炎、尿路感染、原发性高血压等疾病者。选取同时期在医院体检的健康者58例作为C组。A组中男性31例,女性27例;年龄36~78岁,平均(58.3±9.5)岁;病程3~13年,平均(7.2±1.9)年。B组中男性35例,女性23例;年龄36~79岁,平均(58.5±9.2)岁;病程3~12年,平均(7.4±1.8)年。C组中男性33例,女性25例;年龄36~78岁,平均(58.9±9.4)岁。三组受检者的性别、年龄比较和A组和B组患者的病程比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准,所有受检均知情并签署知情同意书。

1.2 观察指标与检测方法

1.2.1 血清Hcy、CysC水平 清晨采集所有受检者空腹静脉血5 mL,置于肝素锂抗凝管中,常温下采用离心机以3 000 r/min的速度离心分离10 min,取上层清液置于-70℃冰箱内保存,待测。采用酶联免疫吸附法检测患者血清Hcy、CysC水平,检测仪器为贝克曼AU5800全自动生化分析仪,Hcy检测试剂盒购自北京九强公司,CysC试剂盒购自上海蓝怡公司,所有操作均按说明书进行。

1.2.2 尿RBP、尿足细胞 取患者以及健康体检者新鲜晨尿两份,离心分离5 min,弃上层清液,沉渣采用PBS清洗3次,加入1 mL PBS重悬,然后加入PE标记鼠抗人足细胞单克隆荧光抗体50 μL,于4℃环境下孵育45 min,采用离心机离心分离5 min,分离完成后采用PBS清洗3次,沉渣中加入2 mL PBS重悬后转移至BD绝对计数管,置于振荡器上充分混匀后采用美国BD公司生产BD FACS Calibur流式细胞仪进行检测。绝对细胞数=(荧光标记细胞计数×已知荧光小

球总数×稀释倍数)/(荧光小球计数×样本总体积)。

1.3 统计学方法 应用SPSS18.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较应用 q 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,使用受试者工作特征曲线(Receiver Operating Characteristic, ROC)分析各指标诊断价值,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组受检者的各项指标比较 A组患者的血清Hcy、CysC、RBP和尿足细胞水平明显高于B组及C组,而B组患者的上述各项指标又明显高于C组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 三组受检者的各项指标比较($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 例数 | Hcy (μmol/L) | CysC (mg/L) | RBP (mg/L) | 尿足细胞(个/μL) |
|----|----|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| A组 | 58 | 21.2±3.5 | 1.8±0.3 | 3.1±0.7 | 2.8±0.8 |
| B组 | 58 | 19.7±2.8 ^a | 1.5±0.2 ^a | 2.6±0.5 ^a | 2.3±0.6 ^a |
| C组 | 58 | 7.7±1.9 ^b | 0.7±0.1 ^b | 0.8±0.1 ^b | 0.7±0.1 ^b |
| F值 | | 401.96 | 401.86 | 339.49 | 207.31 |
| P值 | | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

注:与A组比较,^a $P<0.05$;与B组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 各项指标对2型糖尿病肾病的早期诊断价值 将A组和B组进行研究,以肾小球滤过率<90 mL/min作为2型糖尿病肾病诊断切点,ROC分析显示血清Hcy、CysC、RBP以及尿足细胞诊断最佳切点分别为20.81 μmol/L、1.75 mg/L、2.91 mg/L以及2.73个/μL,各项指标检测敏感性血清CysC>RBP>尿足细胞>Hcy,并且四者联合检测可显著提高诊断敏感性,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2和图1。

表2 各项指标对2型糖尿病肾病早期诊断价值(%)

| 检测指标 | 敏感性 | 特异性 | 阳性预测值 | 阴性预测值 |
|------------|----------|---------|----------|----------|
| Hcy | 58.2 | 81.3 | 60.3 | 80.8 |
| CysC | 80.8 | 84.5 | 79.3 | 83.5 |
| RBP | 79.3 | 83.8 | 84.5 | 84.9 |
| 尿足细胞 | 62.5 | 85.15 | 74.15 | 82.35 |
| 四者联合检测 | 91.7 | 86.2 | 94.8 | 85.7 |
| χ^2 值 | 35.150 2 | 0.855 2 | 29.218 9 | 17.848 2 |
| P值 | <0.01 | 0.632 | <0.01 | <0.05 |

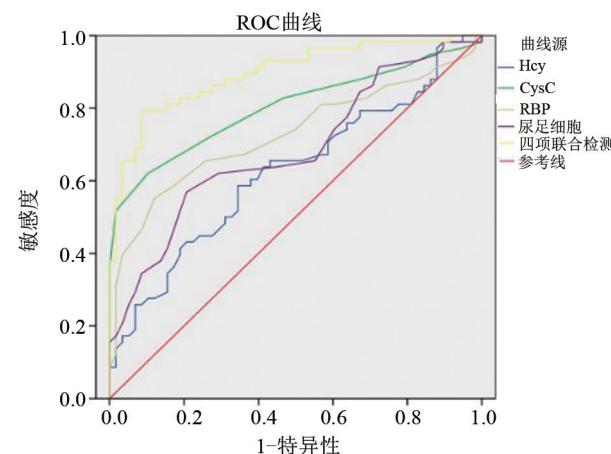


图1 各项指标诊断2型糖尿病肾病的ROC曲线

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病中最严重的慢性并发症,近年来呈逐年增长趋势^[4-5]。糖尿病肾病可分为早期糖尿病肾病、临床期糖尿病肾病和晚期糖尿病肾病。部分早期糖尿病肾病患者经治疗后可恢复正常,近一半的患者在治疗后病情不会进展,会停留在微量蛋白尿阶段^[6-7]。因此,早期诊断糖尿病肾病并采取积极治疗,是提高生存质量,改善预后的重要手段。

Hcy是人体内含硫氨基酸的重要中间代谢产物之一,可损伤患者的血管内皮细胞,促进血管内皮细胞及平滑肌细胞增生,影响到患者肾小球基底膜功能。相关研究表明,早期2型糖尿病肾病患者由于糖脂代谢异常,Hcy生成过多,自由基生成而出现氧化应激损伤。肾功能受损后,肾脏清除Hcy的能力也会下降,Hcy甲基化能力降低以及含硫氨基酸的代谢均为患者体内Hcy水平升高的原因^[8-10]。本研究显示,2型糖尿病肾病患者血清Hcy水平均明显高于单纯糖尿病患者及正常人群。

CysC是有核细胞产生的一种低分子量蛋白,正常情况下会在经肾小球过滤后会被肾小管上皮细胞吸收。CysC对肾小球以及肾小管损伤的评估有重要诊断意义。2型糖尿病肾病患者在正常蛋白尿阶段,CysC水平即升高,标志患者出现肾损伤^[11-13]。RBP作为一种低分子量蛋白质,正常情况下将视黄醇从肝脏运转到上皮细胞,随着人尿液排出的量极少,当患者肝脏出现损伤后,游离的RBP不会被肾小球滤过被近曲小管吸收分解,而是随尿液排出。足细胞作为肾小球滤过屏障的重要组成部分,在对大分子的滤过的过程中发挥着重要作用,当2型糖尿病早期患者出现微量白蛋白尿阶段时,足细胞脱落功能受损,密度降低,因此在尿液中可检测到大量蛋白质^[14-15]。

上述各项指标能够从不同角度体现糖尿病肾病患者的病情程度,多指标联合检测能够显著提高糖尿病肾病的诊断准确率,联合检测对患者病情确诊有着重要意义,可作为糖尿病患者预防以及动态监测的可靠指标。本研究显示,血清Hcy检测的阳性率为60.3%,CysC为79.3%,RBP为87.5%,尿足细胞为74.1%,四者联合检测的阳性率为94.8%,四者联合检测阳性率高于单一指标检测。这是由于患者尿微量白蛋白的排除量以及血清胱抑素C、尿视黄醇结合蛋白水平均随着患者糖尿病肾病的进展呈现出明显增加的趋势。而尿液中足细胞水平的升高提示患者肾小球发生病变,当患者为微量白蛋白尿时,肾脏足细胞的密度明显降低,一旦进展为大量蛋白尿时,肾脏足细胞密度降低更为明显,因此尿足细胞的数量测定对2型糖尿病患者早期肾病的预测具有重要的临

床意义^[16-18]。

综上所述,2型糖尿病患者在出现肾损伤时,血清Hcy、CysC、RBP及尿足细胞水平明显升高,因此四者联合检测对患者早期诊断有着重要意义。

参考文献

- 高欣彤,杨慧慧.肾衰宁颗粒联合贝那普利治疗糖尿病肾病对患者血糖及氧化应激指标的影响[J].海南医学,2020,31(23):3039-3042.
- 刘新辉,李顺民.糖尿病肾病治疗的循证医学研究进展[J].广东医学,2018,39(15):2258-2261.
- ANKUSH RD, KULKARNI DG. Erythrocyte reduced glutathione level in type-2 diabetic patients with and without nephropathy [J]. International Journal of Biotechnology and Biochemistry, 2017, 13(3): 253-260.
- 刘东伟,潘少康,刘章锁.糖尿病肾病的临床危险因素[J].中国实用内科杂志,2017,37(3):189-191.
- 程璐,付平.糖尿病肾病的诊断与鉴别诊断——肾活检在糖尿病肾病诊断中的应用[J].中国实用内科杂志,2017,37(3):192-194.
- FUTRAKUL N, FUTRAKUL P, BUTTHEP P. Altered vascular homeostasis in type 2 diabetic nephropathy [J]. Ren Fail, 2009, 31(3): 207-210.
- NSR-ALLAH AE, FATAH AE, AZAB M. Association between sub-clinical hypothyroidism and diabetic nephropathy in type 2 diabetes [J]. The Egyptian Journal of Internal Medicine, 2018, 30(3): 160-167.
- 刘韵,郭皖北,曹明艳,等.胰岛素抗体阳性的2型糖尿病患者血清同型半胱氨酸水平变化的研究[J].中国糖尿病杂志,2020,28(1):33-36.
- 陈文倩,王晓雪,刘慧芳,等.2型糖尿病肾病及非肾病患者同型半胱氨酸及叶酸等9种维生素水平分析[J].中国药学杂志,2020,55(14):1154-1157.
- 代俊伟,唐晓磊.血清中CysC、RBP、Hcy、CRP水平与糖尿病肾病分期相关性研究[J].国际泌尿系统杂志,2020,40(3):385-388.
- 刘倩,王彦,胡三强,等.血清Hcy、CysC联合尿足细胞检测对2型糖尿病肾病的早期诊断价值[J].山东医药,2017,57(14):65-67.
- 廖惠贞,朱晓洁,王春晖,等.糖尿病肾病早期诊断中相关检测指标的临床意义[J].中国卫生检验杂志,2017,27(24):3561-3563.
- 黎明,徐雯.血清同型半胱氨酸、血清胱抑素-C、尿β-微球蛋白联合检测对早期诊断糖尿病肾病准确性分析[J].国际免疫学杂志,2018,41(4):430-433.
- 宋凯云,刘必成,汤日宁.内皮-足细胞对话在糖尿病肾病中的研究进展[J].中华肾脏病杂志,2019,35(3):231-235.
- 叶凤,肖峰,宋彩霞.长链非编码RNA PVT1通过调控miR-455的表达影响糖尿病肾病足细胞损伤和凋亡[J].中国中西医结合肾病杂志,2020,21(7):48-50.
- 冯祥田,于为民.糖尿病肾脏病与足细胞自噬[J].医学综述,2020,26(18):154-159,165.
- KOEHLER S, KUCZKOWSKI A, KUEHNE L, et al. Proteome analysis of isolated podocytes reveals stress responses in glomerular sclerosis [J]. J Am Soc Nephrol, 2020, 31(3): 544-559.
- 刘倩,杨伏猛,赵绍林,等.血清游离脂肪酸和尿足细胞标志蛋白检测在2型糖尿病肾病中的诊断价值[J].临床检验杂志,2017,35(3):189-192.

(收稿日期:2020-12-14)