糖尿病肾病早期诊断指标的前瞻性筛选研究*

詹鹏飞, 肖俊锐, 袁云燕

(广东省汕头市中医医院检验科 515031)

摘要:目的 探讨在现有的检验项目中筛选糖尿病肾病早期诊断的敏感指标。方法 采用前瞻性研究的方法,在糖尿病患者(该院 2012 年 2 月至 2013 年 2 月治疗的已确诊的 300 例 II 型糖尿病患者)治疗队列中进行糖尿病早期肾损伤的检验指标筛选研究,使用全自动生化分析仪检测临床各项指标,观察早于 24 h 尿清蛋白(UAE)出现异常的检验指标,并选取同期 100 例健康体检者进行对比分析。结果 筛选出由血胱抑素 C(Cys C)、视黄醇结合蛋白(RBP)以及尿中 Cys C、RBP 组成联合检测的方法,作为糖尿病肾病早期诊断的敏感指标,随着病患肾损害程度的加重,糖尿病肾病患者血 Cys C、RBP 以及尿中 Cys C、RBP 检测均呈现递增趋势,与入组时相比差异均有统计学意义($P < 0.01$);以 UAE 水平的异常($> 30 \text{ mg}/24 \text{ h}$)为金标准,联合血 Cys C、RBP 以及尿中 Cys C、RBP 检测,其阳性率可达 100%,上述 4 项指标联合检测可以预测早期糖尿病肾病,敏感性优于 UAE,能够提前半年筛查出 50%早期肾损伤的糖尿病患者。结论 同时检测血中 CysC 和 RBP 以及尿中 CysC 和 RBP 可反映糖尿病早期肾损伤的不同部位,对于诊断早期糖尿病肾病以及干预治疗具有很高的临床价值。

关键词:糖尿病肾病; 半胱氨酸蛋白酶抑制剂; 视黄醇结合蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.16.003 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)16-2238-04

The prospective screening research on early diagnosis index of diabetic nephropathy*

ZHAN Pengfei, XIAO Junrui, YUAN Yunyan

(Department of Clinical Laboratory, Shantou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shantou, Guangdong 515031, China)

Abstract: **Objective** To select a sensitive index for the early diagnosis of diabetic nephropathy during the current inspection items. **Methods** With the prospective researching method, the screening research on laboratory test parameters of early renal injury of diabetes was conducted among the 300 diagnosed II type diabetics who were seeking for therapy in our hospital from February, 2012 to February, 2013. We used the automatic biochemical analyzer to test every clinical index. And we observed the abnormal laboratory test parameters that arose prior to the 24 h uric albumin. Then we selected 100 healthy controls of the same period for contrastive analysis. **Results** We selected a test method composed of Serum Cys C, Serum RBP, Uric Cys C and Uric RBP. It was selected as the sensitive index for the early diagnosis of diabetic nephropathy. We found that the heavier renal injury became, the higher detection value composed of Serum Cys C, Serum RBP, Uric Cys C and Uric RBP appeared. Compared with the initial data, the test index showed a very significant difference ($P < 0.01$). And with the golden standard of abnormal content of UAE ($> 30 \text{ mg}/24 \text{ h}$) as well as the test method composed of Serum Cys C, Serum RBP, Uric Cys C and Uric RBP, the positive rate of testing result could be 100 percent. So we found that the four testing indexes can be used to predict the early diabetic nephropathy jointly. Their sensibility can be superior to that of UAE. They can help to discover 50 percent of diabetics who were suffering from early renal injury in half a year ahead. **Conclusion** To inspect the value of Serum Cys C, Serum RBP, Uric Cys C and Uric RBP can be helpful for diabetics to find out different parts of early renal injury. Consequently, this test method is quite valuable for the diagnosis and therapy of early diabetic nephropathy.

Key words: diabetic nephropathy; cystatin; retinol-binding protein

糖尿病肾病的发生主要是由遗传易感因素及环境因素(高血糖为主)的相互作用引起的,其主要特点是糖尿病史和蛋白尿。预防措施为积极控制和治疗糖尿病,如长期控制血糖在正常水平,可有效阻止糖尿病肾病的发生^[1],研究表明如果在糖尿病肾病早期实施干预可实现延缓甚至逆转^[2],所以早期诊断对防治糖尿病肾病具有重要作用。为了进一步合理使用适宜检验技术,提高糖尿病早期肾脏损伤的风险预测和诊断率,本课题组首次采用前瞻性研究的方法,在糖尿病患者治疗队列中进行糖尿病早期肾损伤的检验指标筛选研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 2 月至 2013 年 2 月本院糖尿病门诊治疗的已确诊的 300 例 II 型糖尿病患者作为研究组,其中男 168 例,女 132 例,年龄(52.62 ± 13.91)岁,其诊断参照《中国慢性疾病防治基层医生诊疗手册(糖尿病分册)》制订的糖尿病诊断标准^[3],空腹血糖 $\geq 7.0 \text{ mmol}/\text{L}$ 或者随机血糖/餐后 2 h 血糖 $\geq 11.1 \text{ mmol}/\text{L}$ 。同时要求:(1)患者年龄 18 岁以上,坚持正规治疗满 5 年。(2)纳入研究前 24 h 尿清蛋白排泄量(UAE)正常。(3)肾功能正常。(4)除外肿瘤、妊娠、急慢性肝

* 基金项目:2014 年度汕头市医疗科技计划项目(2014062)。

作者简介:詹鹏飞,男,主管检验师,主要从事临床检验研究。

炎、其他急慢性炎症、应激状态、甲状腺功能亢进或减低、冠心病及心功能不全者、近期内用过肾毒性药物、大量应用糖皮质激素者、无高血压、活动性结核、矽肺、精神病、癫痫等合并症。研究期间患者予口服降糖药或注射胰岛素积极控制血糖达标,合并高血压病患者经降压药物治疗控制血压达标。本研究经本院伦理委员会批准,研究组采用前瞻性研究方法,征得受试对象本人的知情同意,并为之签署临床研究知情同意书,剔除退出组及失访病例并纳入满 300 例。按时间顺序随机调取该院体检中心同期相同年龄段健康体检者 100 例作为对照组,纳入时两组在年龄、性别比、24 h 尿清蛋白排泄量(UAE)、尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)等方面均具可比性,见表 1。

1.2 观察项目

1.2.1 研究组每月 1 次抽血检测 SCr、BUN、血压抑制素 C(Cys C)、视黄醇结合蛋白(RBP)等代谢指标,同时留取尿液检测 UAE、Cys C、RBP,检测方法遵照《全国临床检验操作规程(第四版)》推荐的方法,具体操作参照试剂说明书。

1.2.2 对照组只进行 1 次上述检测作为本地区人群参考对照。

1.2.3 记录研究结果,对研究组中检测出 UAE 异常(> 30 mg/24 h)经重复试验确认同时排除其他病因(经 B 超检查、尿沉渣检验和中段尿细菌培养等方法来排除肾脏实质性病变和泌尿系统感染所引起尿清蛋白阳性)的患者,停止追踪观察并进入资料整理,统计早于 24 h 尿蛋白排泄率出现异常的指标及时间。

1.2.4 观察时间为 36 个月。

1.3 检测方法 血液标本:使用分离胶促凝真空管抽取所有

受试者早晨空腹血(隔夜空腹 10 h 以上),并分离血清;24 h 尿标本:嘱患者将早晨 8 点起次日早晨 8 点每次所有小便留于一带刻度桶内,置于 4~8 °C 冷藏保鲜,不加防腐剂,准确记录尿液体积,混匀后到尿液样本管中送检。留样期间禁止激烈活动,血清、Cys C 及 RBP 的测定采用乳胶颗粒增强免疫比浊法,试剂盒、标准品和质控品均购自北京九强生物技术股份有限公司(批内差异 CV≤5.0%,批间差异 CV≤8.0%),尿清蛋白试剂购自广州科方生物试剂有限公司,SCr 肌酐(酶法)、BUN(酶法)试剂购自北京九强生物技术股份有限公司(批内差异 CV≤5.0%,批间差异 CV≤8.0%)。以上项目的检测均于该院检验科使用日本东芝公司生产的 RF-120 全自动生化分析仪测定,严格按照仪器及试剂说明书、项目 SOP 文件操作完成,测定时每日室内质控达标,仪器各项参数保持稳定。正常参考值参照《全国临床检验操作规程(第四版)》,以血 BUN>7.14 mg/L、SCr>133 μmol/L 为阳性,UAE > 30 mg/24 h 为阳性,其他项目通过对对照组确定该年龄段人群的正常参考值,超过上限者为阳性^[4]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计学软件对所得数据进行分析处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组的血、尿 Cys C 及 RBP 的正常参考值水平 以对照组的 $\bar{x} \pm 1.96s$ 为正常参考值,该年龄段人群的正常参考值分别为血 Cys C 0.58~1.06 mg/L、尿 Cys C 0.17~0.23 mg/L、血 RBP 24.18~68.52 mg/L、尿 RBP 0.36~0.64 mg/L,见表 1、2。

表 1 入组时研究组与对照组临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	性别比(男/女)	UAE(mg/24 h)	Cr(μmol/L)	BUN(mmol/L)
研究组	300	52.62±13.91	168/132	20.66±3.48	103.35±16.55	5.36±0.89
对照组	100	53.33±14.21	59/41	19.99±1.69	99.93±14.24	5.19±0.48
<i>t</i> (χ^2)值		0.44	0.28	1.85	1.85	1.82
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 2 健康对照组血、尿 Cys C 及 RBP 水平及正常参考值计算(mg/L)

性别	<i>n</i>	血 Cys C	尿 Cys C	血 RBP	尿 RBP
男	59	0.82±0.12	0.19±0.02	47.17±11.63	0.50±0.07
女	41	0.82±0.11	0.19±0.02	45.16±10.84	0.50±0.08
均值		0.82±0.12	0.19±0.02	46.35±11.31	0.50±0.07
正常参考值		0.58~1.06	0.17~0.23	24.18~68.52	0.36~0.64

2.2 糖尿病早期肾损伤检验指标观察 截止 3 年的观察期,

研究组 300 例患者共有 92 例出现 UAE 水平的升高经确认为早期糖尿病肾病患者,这 92 例早期糖尿病肾病患者 UAE、SCr、BUN、血尿 RBP、血尿 Cys C 均呈现随时间递增趋势,其水平与入组首次检测数据相比,差异均具有统计学意义(*P*<0.01),见表 3。联合检测血 Cys C、RBP 以及尿中 Cys C、RBP,其阳性率可达 100%,而且通过回顾性分析发现有 46 例(50%)患者提前 6 个月出现联合检测项目一项以上阳性,即联合检测法能够提前半年筛查出 50%早期肾损伤的糖尿病患者,见表 4。

表 3 92 例早期糖尿病肾病患者确诊时与入组时各指标的对比分析($\bar{x} \pm s$)

时间	UAE(mg/24 h)	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	血 Cys C(mg/L)	尿 Cys C(mg/L)	血 RBP(mg/L)	尿 RBP(mg/L)
诊断时	42.62±4.21	106.12±22.19	6.06±0.46	1.86±0.54	0.58±0.15	82.38±21.15	1.16±0.49
入组时	20.63±8.19	92.42±17.32	5.78±0.52	1.01±0.32	0.33±0.16	58.39±14.48	0.49±0.41

续表 3 92 例早期糖尿病肾病患者确诊时与入组时各指标的对比分析(±s)

时间	UAE(mg/24 h)	SCr(μmol/L)	BUN(mmol/L)	血 Cys C(mg/L)	尿 Cys C(mg/L)	血 RBP(mg/L)	尿 RBP(mg/L)
t	41.36	8.43	6.99	23.45	19.74	16.21	18.16
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 4 92 例早期糖尿病肾病患者确诊时及确诊前各指标的检测阳性率[n(%)]

时间	UAE	SCr	BUN	血 Cys C	尿 Cys C	血 RBP	尿 RBP
确诊时	92(100)	16(17.39)	14(15.22)	68(73.91)	66(71.74)	76(82.60)	52(56.52)
前 1 月	0	12(13.04)	11(11.96)	49(53.26)	55(59.78)	62(67.39)	48(52.17)
前 2 月	0	11(11.96)	9(9.78)	39(42.39)	40(43.48)	50(54.35)	45(48.91)
前 3 月	0	8(8.69)	8(8.69)	34(36.96)	34(40.22)	44(47.83)	41(44.57)
前 4 月	0	5(5.43)	6(6.51)	24(26.09)	29(31.52)	37(40.22)	37(40.22)
前 5 月	0	2(2.17)	4(4.34)	19(20.65)	22(23.91)	33(35.87)	31(33.70)
前 6 月	0	1(1.09)	2(2.17)	18(19.57)*	21(22.83)*	30(32.61)*	29(31.52)*

注: * 表示此 4 项合计检出 46 例阳性(剔除重合者)。

3 讨 论

目前最新的《中国慢性疾病防治基层医生诊疗手册(糖尿病分册)》将糖尿病所致肾损害分为 5 期,其中Ⅲ期为早期糖尿病肾病期,以持续性微量清蛋白尿为标志,Ⅲ期以前患者在临床上尚无明显肾脏损害的表现,肾脏病理改变尚可逆转,如若及时进行有效的治疗,可以阻止糖尿病肾病的进一步发展。肾穿刺活检虽然是公认的明确肾脏病变的金指标,但肾活检为有创检查,在临床上很难普遍开展。作为一种反映肾小球损害的非侵入性指标,UAE 是目前公认的 DN 早期诊断和判断预后的重要指标,但 UAE 检测也有一定的局限性,其测定稳定性差,结果容易受运动、饮食、尿路感染、月经期、血压、血脂、酮症状态、尿量及留尿方式等诸多方面的因素影响,因此人们迫切需要寻找能更早期、全面反映糖尿病肾病病情和病程的诊断指标,以及时发现早期肾损伤,采取措施阻止或延缓临床糖尿病肾病的发生^[5-6]。由于 UAE 主要反映肾小球损害,尿清蛋白排出率<30 mg/24 h 时,肾脏也可存在较严重的损害。以往的理论认为,糖尿病早期肾损伤病变首先发生在肾小球,但近期相关研究结果显示糖尿病肾病早期即可出现肾小管损害,甚至部分患者肾小管损害早于肾小球损害,并随着病程的发展而加重,其发生机制可能为糖代谢异常造成小管上皮细胞损伤而影响了肾小管功能^[7-10]。因此,此次本研究进行糖尿病肾病早期诊断指标的筛选研究充分考虑了反映肾小球和肾小管功能的各种指标,包括反映肾小球滤过功能的血液指标 Cys C、RBP、BUN、SCr 和反映肾小管功能的尿 Cys C、RBP 以及各种尿微量蛋白,另外还要求该指标在血(尿)中存在水平稳定,检测方法成熟可靠、干扰因素小、有现成的检测试剂。限于篇幅,本文仅对筛查出有显著效果的方法进行报道。

临床常规肾功能项目 BUN、SCr 因肾脏强大的储备和代偿能力,在肾小球受损早期或轻度受损时可以不发生改变,所以不属于早期指标^[5-7]。Cys C 是一种半胱氨酸蛋白酶抑制剂,机体所有有核细胞均可产生,是一种低相对分子量、碱性非糖化蛋白质,在体内以恒定速度产生。循环血液中的 Cys C

能自由透过肾小球,在近曲小管几乎全部重吸收,重吸收后被完全分解,不返回血液。因此,其血中水平由肾小球滤过决定,而不依赖任何外来因素,如性别、年龄、饮食和药物和炎症、肿瘤等病理因素的影响,是一种反映肾小球滤过率变化的敏感、特异指标,是理想同源性标志物,血 Cys C 升高提示肾小球滤过功能受损^[6-9];如果 Cys C 未在肾小管中被代谢而出现在尿液中,则提示肾小管受损或功能障碍,因而尿 Cys C 又是可以灵敏反映肾小管重吸收功能的内源性标志蛋白^[13]。RBP 是维生素 A 的运载蛋白,主要由肝脏合成,相对分子量约为 21×10³,在血浆中 90%与甲状腺结合前蛋白相结合后则不能通过肾小球,未结合的视黄醇可自由通过肾小球,在近曲小管被重吸收而分解。当肾小球滤过功能受损时,血 RBP 水平升高^[10-12]。正常情况下,尿 RBP 排泄量极少,约 100 μg/24 h,且在尿中 RBP 稳定性较强,不易受 pH 和血压影响,但当近曲小管重吸收功能受损时,尿中 RBP 水平会明显增加,故尿 RBP 可作为肾近曲小管受损的标志物,是肾小管损害的最灵敏指标,能反映早期肾小管的损害^[12-13]。

DN 病理机制复杂,采用单一的生化指标进行诊断很难有效的评价疾病进展^[14-15]。综合诊断模型是临床诊断学未来发展的新趋势。既往对糖尿病肾病早期诊断指标的研究大部分局限于对不同临床分组进行相关指标计量资料的对比^[7-15],本研究首次采用前瞻性研究的方法,在糖尿病患者治疗队列中进行糖尿病早期肾损伤的多种检验指标筛选研究,首先对观察期出现 UAE 水平的升高者进行严格确认,除外其他影响因素后以此为金标准确定为早期糖尿病肾病患者,通过既往临床资料数据分析,筛选出由血 Cys C、RBP 以及尿中 Cys C、RBP 组成联合检测的方法,通过对本组资料研究分析显示,随着病患肾损害程度的加重,糖尿病肾病患者血 Cys C、RBP 以及尿中 Cys C、RBP 检测均呈现递增趋势,与入组时相比均有特别显著性差异;当 UAE 水平升高达到诊断标准时,联合检测法阳性率可达 100%,而且上述 4 项指标联合检测预测早期糖尿病肾病敏感性优于 UAE,能够提前半年筛查出 50%早期肾损伤的糖尿

病患者。说明联合检测法能够更早地发现肾损伤并提供肾损伤程度的信息,提示相关肾损伤的部位以及损伤范围的具体信息。总之,以上联合检测指标对于筛查早期糖尿病肾病、提示肾功能损害的程度及部位均具有较高的临床价值,值得进行临床推广应用。

参考文献

[1] 王玉梅,刘红春.糖尿病患者早期肾损伤指标联合检测的临床价值[J].中国误诊学杂志,2007,5(13):2466-2467.
 [2] 王珏.血、尿生化指标联合检测对高血压和糖尿病患者早期肾损伤的诊断意义[J].医学信息,2011,24(3):350-352.
 [3] 纪立农,陈莉明,郭晓惠.中国慢性疾病防治基层医生诊疗手册(糖尿病分册)[J].中国糖尿病杂志,2015,8(6):673-701.
 [4] 黄清松,蔡晔芬,肖旺贤.广州地区成人血尿视黄醇结合蛋白参考值建立[J].中国实验诊断学,2013,11(17):1995-1997.
 [5] 唐国传,龚智峰.糖尿病肾病早期诊断策略研究进展[J].中国临床新医学,2012,8(5):797-799.
 [6] 乔玉峰,庞东梓,张志利,等.糖尿病肾病早期诊断指标研究进展[J].国外医学泌尿系统分册,2005,9(5):670-672.
 [7] 李孟兰,童华诚,沈亚芳.多项生化指标联合检测在糖尿

病肾病中的诊断价值[J].检验医学与临床,2015,12(5):633-635.
 [8] 陈红,钟爱民.血清、尿 Cystatin C 检测在糖尿病肾病中的临床应用价值[J].江西医药,2012,47(3):210-276.
 [9] 庄严,陈至友,王黎敏.血与尿胱抑素 C 在糖尿病早期肾损伤中的意义[J].中国实验诊断学,2014,8(18):1304-1306.
 [10] 高向阳.血清 RBP 与肾功能指标联合检测在糖尿病肾病中的临床价值[J].国际检验医学杂志,2016,37(4):557-558.
 [11] 王蕾,庄亦晖,高峰.血清视黄醇结合蛋白在肾脏疾病中的应用[J].检验医学,2004,19(2):89-92.
 [12] 徐定波,涂萍,吴和平.视黄醇结合蛋白与 2 型糖尿病肾病的相关性[J].广东医学,2013,34(10):1542-1543.
 [13] 梁国玉,刘惠兰.糖尿病肾病肾小管功能研究进展[J].国外医学:泌尿系统分册,2005,5(25):655-656.
 [14] 王彦春,张俊峰,魏殿军.胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白对糖尿病肾病早期诊断的价值及相关性[J].广东医学,2014,35(17):2517-2519.
 [15] 李胜开,李琮辉,王丕荣.糖尿病早期肾损害的监测[J].遵义医学院学报,2001,12(5):504-506.

(收稿日期:2016-03-02 修回日期:2016-05-11)

(上接第 2237 页)

中毒合并呼吸功能衰竭的 26 例临床观察[J/CD].世界最新医学信息文摘(电子版),2014,10(1):67.
 [4] 郑晓燕,庄荣.急性重度有机磷农药中毒合并呼吸衰竭的救治体会[J].海峡药学,2011,23(2):137-138.
 [5] Abedin MJ, Sayeed AA, Basher A, et al. Open-label randomized clinical trial of atropine bolus injection versus incremental boluses plus infusion for organophosphate poisoning in Bangladesh[J]. J Med Toxicol, 2012, 8(2): 108-117.
 [6] 尤静,石咏梅,石红梅,等.胃管注入解磷啶及甘露醇应用于有机磷农药中毒的临床效果[J].医学临床研究,2014,16(4):715-716.
 [7] 汤波,肖繁荣.机械通气对有机磷农药中毒致呼吸衰竭 61 例分析[J].中外医学研究,2014,21(1):49-50.
 [8] Jokanovic M, Skrbic R. Neurotoxic disorders and medical

management of patients poisoned with organophosphorus pesticides[J]. Scripta Medica (Banja Luka), 2012, 43(2): 91-98.
 [9] 李利.急性有机磷农药中毒伴呼吸衰竭人工气道的护理问题及对策[J].山西医药杂志,2011,40(6):298-300.
 [10] 胡倩.早期机械通气治疗急性有机磷农药中毒伴急性呼吸衰竭临床分析[J].中国卫生产业,2012,9(2):158-159.
 [11] 孙美红.早期机械通气治疗有机磷农药中毒急性呼吸衰竭临床分析[J].中国社区医师:医学专业,2012,14(2):188-189.
 [12] 石红梅,尤静.胃管注入解磷啶及甘露醇救治有机磷农药中毒的护理配合[J].医学临床研究,2014,20(6):617-618.

(收稿日期:2016-02-02 修回日期:2016-04-11)

编辑部启事

刊登于本刊 2016 年 13 卷 14 期第 2005 页的论文《子宫内膜炎淋球菌基因突变与多重耐药性的关系》,原第一作者程俊(湖南省衡阳市南华大学附属第一医院检验科)更改为常旺燕(陕西省延安市人民医院妇产科),其余作者不变。特此声明。

《检验医学与临床》编辑部
2016 年 8 月 9 日