

• 论 著 •

β_2 -微球蛋白、糖化血红蛋白和血清胱抑素 C 的联合检测在糖尿病肾病中的临床意义

甘家红,常 琳[△]

(重庆市璧山区人民医院检验科,重庆 402760)

摘 要:目的 探讨尿 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、糖化血红蛋白(HbA1c)和血清胱抑素 C(CysC)的联合检测在诊治糖尿病肾病(DN)中的临床意义。方法 选择 2014 年月 1~10 月在该院进行治疗的糖尿病早期肾病患者 60 例,单纯糖尿病患者 100 例,健康对照组 50 例。运用乳胶颗粒免疫比浊法检测血清 CysC,用免疫透射比浊法检测尿 β_2 -MG,离子交换高效液相色谱法检测 HbA1c 并用统计学方法对所测结果进行统计分析。结果 3 项检测指标在糖尿病早期肾病患者(早期 DN 组)中的表达均高于单纯糖尿病组(单纯 DM 组)和健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);单纯糖尿病组和健康对照组 HbA1c 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 尿 β_2 -MG、CysC 和 HbA1c 这 3 项指标都是反映糖尿病患者早期肾功能损害的良好指标,其联合检测对糖尿病早期肾脏损害的诊断,以及糖尿病的治疗和病情监测有重要意义。

关键词: β_2 -微球蛋白; 糖化血红蛋白; 血清胱抑素 C; 糖尿病肾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)12-1723-03

The clinical significance of joint detection of β_2 -MG, glycosylated hemoglobin and cystatin C in early diabetic renal damage

GanJiahong, Chang Lin[△]

(Department of Clinical Laboratory, Bishan District People's Hospital, Chongqing 402760, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of joint detection of β_2 -microglobulin(β_2 -MG), glycosylated hemoglobin and Cystatin-C (CysC) in early renal injury in patients with diabetes mellitus. **Methods** 60 patients with early diabetic renal damage were in early diabetic renal damage group and 100 patients with simple diabetes mellitus were in simple diabetes mellitus group. 50 healthy persons were the control group. Using immunoturbidimetry to detect the serum level of CysC, immunoturbidimetry transmission to detect the urine level of β_2 -microglobulin and ion exchange high performance liquid chromatography method to detect the level of HbA1c. **Results** There were statistically significant differences in the level of β_2 -MG, glycosylated hemoglobin between early diabetic renal damage group and the other two groups ($P<0.05$). There were statistically significant differences in the level of glycosylated hemoglobin between simple diabetes mellitus group and healthy control group ($P<0.05$). **Conclusion** It is important for patients with diabetes mellitus to detect the β_2 -MG, glycosylated Hemo globin and CysC in diagnosis, monitoring, prevention of early renal injury.

Key words: β_2 -microglobulin; glycosylated hemoglobin; cystatin-C; diabetic nephropathy

近年来,糖尿病(DM)患者的人数逐渐增多。2000 年,据世界卫生组织统计,DM 的发病率约为 2.0%,预计 2030 年将达到 4.4%^[1]。糖尿病肾病(DN)是 DM 最严重、且常见的并发症之一,也是 DM 致残、致死的主要原因^[2]。尿 β_2 -MG 是反映早期肾小管损害的敏感指标;CysC 是肾功能减退的临床指标,对 DN 的早期诊断具有重要的临床意义;HbA1c 能平稳的反映机体过去 2~3 个月的血糖水平,是评价 DM 治疗方案有效性的金指标和控制血糖的重要生物标志。本文将通过对 DM 患者尿 β_2 -MG、HbA1c 及 CysC 的联合检测,来探讨其对 DM 早期肾脏损害的诊断价值以及对 DM 的预防、治疗价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照 2007 年美国糖尿病协会(ADA)糖尿病指南制定的诊断标准:一旦 DM 患者出现微量的清蛋白尿,即尿清蛋白排出量为 30~300 mg/24 h,则诊断为早期 DN。由本院 2014 年 1~10 月份肾内科及内分泌科住院和门诊的 160 例患者作为研究对象。其中早期 DN 组 60 例,单纯糖尿病组(单纯 DM 组)100 例,年龄为 30~72 岁,平均 53.1 岁,女性 58 例,男性 102 例。所有入选患者首先排除感染、高血压、肿瘤、冠心病、DM 急性并发症、急慢性肾炎、肾病综合征、脑血管疾

病、血液系统疾病以及自身免疫性疾病,且抽血前 2 周内未服用叶酸类、维生素 C 等药物。健康对照组 50 例,为本院体检中心健康体检自愿者,年龄 30~73 岁,平均 51.3 岁,女 22 例,男 28 例,均无感染、肿瘤、自身免疫性疾病;也均无心、肝、肾、和血液系统疾病;且近期没有服用叶酸类、维生素 C 以及肾毒性药物。以上各组人员的年龄、性别经统计学分析差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 东芝 TBA-120FR 全自动生化分析仪,爱科来 HA8160 全自动糖化血红蛋白仪。 β_2 -MG 和 CysC 的配套试剂、校准品、质控品均由北京康大生物科技有限责任公司提供;HbA1c 采用爱科来 HA8160 全自动糖化血红蛋白检测仪原装配套试剂及其校准品,质控品则由美国伯乐公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 CysC 检测标本以肝素钠抗凝管在受试者早晨空腹时采集静脉血 3 mL,并经 3 500 r/min 离心 3 min 留取血清待测;HbA1c 检测标本以氟化钠抗凝管在受试者早晨空腹采集静脉血 2 mL,全血检测;尿 β_2 -MG 检测标本采用受试者的 24 h 尿液,混匀、取 10 mL 待测。

1.3.2 检测方法 HbA1c 检测采用离子交换高效液相色谱

法(HPIC),仪器采用爱科来 HA8160 全自动糖化血红蛋白仪。CysC 检测用乳胶颗粒免疫比浊法,仪器采用东芝 TBA-120FR;尿 β_2 -MG 检测用免疫透射比浊法,仪器采用东芝 TBA-120FR。HbA1c 正常参考范围为 4%~6%;CysC 正常参考范围为 0.00~1.03 mg/L。尿 β_2 -MG 正常参考范围为 0~0.2 mg/L。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 软件处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 尿 β_2 -MG、CysC、及 HbA1c 在各组中的表达 单纯 DM 组及健康对照组的 β_2 -MG、CysC、及 HbA1c 表达水平均低于早期 DN 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);单纯 DM 组与健康对照组 HbA1c 的水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

| 表 1 各组 CysC、 β_2 -MG、HbA1c 结果比较 | | | | |
|---------------------------------------|----------|--------------|---------------------|-------------|
| 组别 | <i>n</i> | CysC(mg/L) | β_2 -MG(mg/L) | HbA1c(%) |
| 健康对照组 | 50 | 0.53±0.031 | 0.11±0.03 | 5.10±0.69 |
| 单纯 DM 组 | 100 | 0.59±0.037 | 0.27±0.08 | 7.45±1.82▲ |
| 早期 DN 组 | 60 | 1.60±0.874▲* | 0.49±0.06▲* | 8.12±1.52▲* |

▲: $P < 0.05$,与健康对照组比较;*: $P < 0.05$,与单纯 DM 组比较。

2.2 β_2 -MG、CysC 及 HbA1c 对疾病的诊断 早期 DN 组 β_2 -MG、CysC、HbA1c 三者联合检测阳性率大于单纯 DM 组。见表 2。另外对尿 β_2 -MG、HbA1c 及 CysC 任意两项的联合检测来诊断早期 DN,结果发现其两者的联合诊断的阳性率要低于三者诊断的阳性率。因此,尿 β_2 -MG、CysC、HbA1c 三者的联合检测更有助于 DN 早期诊断,并为其治疗赢得时间。

| 表 2 两组 β_2 -MG、CysC 及 HbA1c 阳性率比较(%) | | | | |
|--|---------------|------|-------|------|
| 组别 | β_2 -MG | CysC | HbA1c | 联合检测 |
| 单纯 DM 组 | 4.3 | 8.6 | 55.3 | 60.5 |
| 早期 DN 组 | 72.7 | 57.4 | 82.1 | 92.3 |

3 讨 论

DN 的病因及发病机制十分复杂,是一种慢性微血管并发症。长期存在的高血糖,疾病进展过程中出现的异常的血管活性物质代谢(比如内皮素、RAS、前列腺素等代谢异常),以及疾病后期持续存在的蛋白尿,这些因素都会造成系膜细胞增生、肾小球基底膜增厚以及肾小球硬化^[3]。因此 DN 被认为是 DM 最常见,且最严重的并发症之一。在我国,也逐渐成为慢性肾衰的主要病因,同时,也是导致 DM 患者死亡最主要的原因之一。DN 早期临床症状不明显,发病隐匿,所以很难在早期诊断出来,往往一经发现患者往往已经出现严重的肾功能损伤。目前有文献显示 DN 是成人慢性肾功能衰竭的重要因素,在美国每年进行血液透析的患者中,有大约一半是 DN^[4]。因此,早期明确诊断 DN 对其干预治疗及其预后十分重要。

HbA1c 在血液中水平与血糖浓度成正比,合成过程十分缓慢,由于 HbA1c 是血液中血红蛋白游离氨基与葡萄糖游离醛基间的非酶缩合产物,其结构十分稳定且相对不可逆,因此 HbA1c 可稳定的反映患者测定前 2~3 个月的平均血糖水平^[5],且不受偶尔一次血糖升高或降低的影响。同时,如果 HbA1c 比率增高,则会降低红细胞对氧的亲合力,进而使组织与细胞缺氧,加速心脑血管及外周血管等并发症的形成^[6]。比

如肾血管发生剧烈收缩,肾血管阻力升高,肾血流量降低,最终导致蛋白尿产生。所以 HbA1c 的检测不仅有利于 DM 的早发现早诊断,更有利于 DN 等并发症的早期发现,以便及早治疗^[7]。

CysC 是一种半胱氨酸蛋白酶的抑制剂,广泛存在于组织的有核细胞中,是一种低相对分子质量的碱性非糖化蛋白质,由机体所有有核细胞产生,且产出率十分稳定、快速,并且无组织特异性^[8]。由于 CysC 相对分子质量小,仅为 13.3×10^3 ,可以自由通过肾小球滤过膜,并在近曲小管几乎完全被重吸收和降解,并且不再返回到血液中。当肾小球出现轻微损伤时,其滤过率便会下降,血中 CysC 浓度即可出现升高,并随着病情的加重而逐渐增高,所以 CysC 被认为是反映肾小球滤过率变化的理想内源性标志物^[9]。更有报道称 Cys-C 是评价早期肾损伤和肾小球率过率(GFR)的理想指标^[10]。 β_2 -MG 是 I 型 HLA 抗原轻链蛋白,相对分子质量约为 11 800。健康人每天可产生大约 150~200 mg β_2 -MG,因其相对分子质量较小,几乎全部从肾小球滤过(正常血液浓度:1~2 mg/L),滤过的 β_2 -MG 约 99.9%被近曲小管重吸收,因此健康人尿液中含量很低^[11]。而在病理状态,如 DN 早期,尿中的 β_2 -MG 显著增高。因此,尿 β_2 -MG 检测被认为是衡量 DM 患者轻度肾功能减退和疗效观察的一项简便、准确而又敏感的方法。

本文将代表 DM 长期血糖变化平均水平 HbA1c,反映肾脏早期受损肾小球滤过率变化的内源性标志物 CysC 以及反映肾脏近曲小管损伤的敏感危险因素尿 β_2 -MG 的联合检测,发现 CysC、尿 β_2 -MG 以及 HbA1c 在单纯 DM 组和健康对照组中明显降低,与 DM 并发早期肾脏损害的患者比较差异有统计学意义($P < 0.05$);HbA1c 在单纯 DM 组中的表达明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),与一些研究报道相符合。同时本文也对 3 项指标在诊断早期 DN 阳性率情况进行统计学分析,结果显示联合检测阳性率要远远大于单纯检测的阳性率。因此,研究者认为血清 CysC、尿 β_2 -MG 以及 HbA1c 的联合检测有助于提高 DN 早期诊断率。

综上所述,血清 CysC、尿 β_2 -MG 以及 HbA1c 联合检测可及早诊断早期 DN,并且可以动态观察 DM 患者肾脏微血管病变以及疾病的进展情况,不但能提高早期 DN 诊断率,而且对 DN 预防及其治疗也提供了很有利的临床指标。鉴于长期高血糖可诱发各种并发症,所以强化血糖控制,一直是 DM 治疗一个基本策略,且对于延缓疾病的进展,甚至逆转糖尿病早期肾损害以及对疾病治疗期间的病情监测都具有极其重要的临床意义^[12]。

参考文献

[1] 王春霞,甄宏斌,朱文鹏,等. 2 型糖尿病患者早期肾病生化指标变化观察[J]. 人民军医,2011,54(11):990-992.

[2] 牛凤英,农七师. II 型糖尿病患者血脂检测结果分析[J]. 检验医学与临床,2012,9(6):735-735.

[3] 欧兴义,何志军,吴琛,等. 糖化血红蛋白、胱抑素 C 和尿微量清蛋白联合检测在糖尿病早期肾损伤中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(12):1487-1488.

[4] 王静,刘海东. II 型糖尿病患者糖化血红蛋白和血脂检测及临床意义[J]. 中国现代医生,2012,30(33):132-133.

[5] Duarte PM, Oliveira MC, Tambeli CH, et al. Overexpression of interleukin-1beta and interleukin-6 may play an important role in periodontal breakdown in type 2 diabetic patients[J]. J Periodontal Res, 2007, 42(4):377-381.

(下转第 1727 页)

背景、生活方式及环境有着密切关系,是一种较复杂的遗传性疾病,血脂水平是影响 CAD 发病率和病死率的重要因素,有研究报道 PCSK9 基因即前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 基因可影响血清胆固醇水平,PCSK9 基因的突变引起患者发生高胆固醇血症或低胆固醇血症^[3-4]。PCSK9 不同部位碱基突变形式多样,具单核苷酸多态性(SNP)^[5],E670G 位点是 PCSK9 基因外显子 12,它的突变可导致血清 LDL-C 水平的升高,并于冠状动脉粥样硬化的严重程度密切相关,是 LDL-C 水平和冠状动脉粥样硬化严重程度的基因标志物。而以降脂为目的使用他汀类药时,PCSK9 呈浓度依赖性表达上调^[6-7]。PCSK9 已成为 CAD 研究的候选基因,对阐述 CAD 的发生发展机制提供新的途径。有研究报道,人血清中 PCSK9 浓度在 33~2 988 ng/mL,平均水平在 487 ng/mL^[8]。他汀类药物是目前临床应用较为广泛的一类调脂药^[9],其作用机制为抑制肝脏胆固醇合成中的 HMG-CoA 还原酶活性,显著降低 LDL-C 发挥降脂作用,他汀类药物的不良反应主要是肌病和肝酶升高。目前,国内学者开始研究 PCSK9 基因,有关 PCSK9 基因 SNP 位点筛选、PCSK9 基因 SNP 与 CAD 及其预后关系的研究虽然有相关报道,但未有明确结论。

本实验对东莞汉族人 PCSK9 基因 E670G 多态性与 CAD 及其预后的关系进行研究,分析、比较 PCSK9 基因 E670G 多态性位点在 CAD 患者和健康对照人群中的分布特点,及其与 PCSK9 血清学水平、血脂水平、CAD 发生、病变程度的关系。结果发现酶切后基因分型存在两种多态:298 bp 和 152 bp DNA 片段(A 等位基因),450 bp DNA 片段(G 等位基因),基因型主要为 AA 即 298 bp 和 152 bp 的纯合子,其次为 AG 即 450 bp 和 298 bp、152 bp 的杂合子,尚未检测到 450 bp GG 纯合子基因型。东莞地区汉族人 CAD 患者基因型频率和等位基因频率差异不显著,CAD 组整体 TC、LDL-C 水平显著高于健康对照组,HDL-C 显著低于健康对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),但 AA 基因型的 CAD 患者 LDL-C 水平显著低于 AG 基因型,HDL-C 水平显著高于 AG 基因型的患者($P<0.05$),TC、TG 水平相比差异无统计学意义($P>0.05$)。可见 PCSK9 基因 E670G 多态性与 HDL-C 和 LDL-C 水平关系密切,与 CAD 病变程度具有一定相关性。但也有研究报道 G 等位基因携带者有降低 LDL-C 水平趋势^[10],其机制可能与 E670G 与 PCSK9 基因或邻近区域未知功能改变的不平衡连锁造成,也可能与不同种族环境下,其他因素影响作用。随访 CAD 患者在他汀类药物治疗后心血管事件发生状况,半年内发生心血管的例数总共为 27 例,AA 基因型占 66.7%,AG 基

因型占 33.3%,心血管事件例数和平均病变支数差异具有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述,东莞地区汉族人群 PCSK9 基因 E670G 多态性是 CAD 发病率的危险因素之一,CAD 患者中 G 等位基因的携带可能增加发病概率和再发病风险,这可为患者危险性分层评估、个性化药物治疗方案制定等提供临床参考。

参考文献

[1] 莫玉前,钟孟如,郭志勤. 东莞汉族人 PCSK9 基因 SNP 与冠心病及其预后关系研究[J]. 现代诊断与治疗,2014,25(8):1883-1884.

[2] 孟艳辉,刘忠民. 广东汉族人 PCSK9 基因 E670G 位点多态性与冠心病相关性研究[J]. 热带医学杂志. 2011,11(2):137-138.

[3] 曾剑,刘英,曾智,等. PCSK9 基因单核苷酸多态性与冠心病的关联研究[J]. 现代医药卫生,2011,27(21):3202-3203.

[4] 唐志哈,任重,武春艳,等. PCSK9-siRNA 在抗 oxLDL 诱导的 THP-1 源性巨噬细胞凋亡中对 Bax、Bcl-2 表达的影响[J]. 中国动脉硬化杂志,2011,19(1):29-33.

[5] 杜玮南,孙红霞,方福德. 单核苷酸多态性的研究进展[J]. 中国医学科学院学报,2000,22(4):392-394.

[6] 沈莉,赵水平. 降脂新药 PCSK9 抑制剂研究现状[J]. 中华内科杂志,2013,52(7):607-608.

[7] Dubuc G, Chamberland A, Wasef H, et al. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the Proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(8):1454-1459.

[8] Lakoski SG, Lagace TA, Cohen JC, et al. Genetic and metabolic determinants of plasma PCSK9 levels[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(7):2537-2543.

[9] 吴娜琼. 2011 年美国国家脂质协会成人家族性高胆固醇血症患者管理建议解读[J]. 中国医学前沿杂志:电子版,2012,4(2):48-54.

[10] Poirier S, Mayer G, Benjannet S, et al. The proprotein convertase PCSK9 induces the degradation of low density lipoprotein receptor (LDLR) and its closest family members VLDLR and ApoER2[J]. J Biol Chem, 2008, 283(1):2363-2372.

(收稿日期:2015-03-08)



(上接第 1724 页)

[6] 朱启波,童南伟. 2011 年美国内分泌医师协会糖尿病临床实践指南解读[J]. 中国医学前沿杂志:电子版,2011,3(4):3-8.

[7] Bhavsar NA, Appel LJ, Kusek JW, et al. Comparison of measured GFR, serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein to predict ESRD in African Americans with hypertensive CKD[J]. Am J Kidney Dis, 2011, 58(1):886-893.

[8] 杨术生,周丹秋. 血清胱抑素 c 在急性肾盂肾炎中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(19):2403-2404.

[9] Peralta CA, Katz R, Sarnak MJ, et al. Cystatin C identifies chronic kidney disease patients at higher risk for complications[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(1):147-155.

[10] Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, et al. Estimating glomerular

filtration rate from serum creatinine and cystatin C[J]. N Engl J Med, 2012, 367(1):20-29.

[11] Stevens PE, Levin A. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline[J]. Ann Intern Med, 2013, 158(1):825-830.

[12] 王伟,马黎丽,王卫国. 胱抑素 C 与尿微量清蛋白在 II 型糖尿病早期肾损害中的临床应用[J]. 中国实验诊断学,2011,15(10):1666-1668.

(收稿日期:2015-03-18)