

• 论 著 •

血清 Hcy、RBP 和 Cys C 联合检测在妊娠期糖尿病肾病的早期诊断价值^{*}

宫 辉,高玲娟,陈亚军

南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院检验科,江苏南京 210004

摘 要:**目的** 探讨联合检测同型半胱氨酸(Hcy)、视黄醇结合蛋白(RBP)及胱抑素 C(Cys C)对妊娠期糖尿病肾病(DN)的早期诊断价值。**方法** 选取 2012 年 1 月至 2019 年 10 月南京医科大学附属妇产医院妊娠期 DN 患者 82 例为研究对象,分为早期 DN 组(44 例)和临床 DN 组(38 例),另选择同期同孕周健康孕妇 48 例为健康对照组。比较 3 组的 Hcy、RBP 和 Cys C 水平;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 Hcy、RBP 和 Cys C 对妊娠期 DN 的早期诊断效能。**结果** Hcy、RBP、Cys C 水平在临床 DN 组均高于早期 DN 组,差异有统计学意义($P<0.01$)。Hcy、RBP 和 Cys C 3 项指标联合检测的灵敏度高于 Hcy 和 RBP 2 项指标联合检测($P<0.05$)。Hcy、RBP 和 Cys C 3 项指标联合检测的 ROC 曲线下面积为 0.856。**结论** Hcy、RBP 和 Cys C 联合检测能够提高妊娠期 DN 的早期诊断效能。

关键词:糖尿病肾病; 同型半胱氨酸; 视黄醇结合蛋白; 胱抑素 C
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.03.024 **中图法分类号:**R587;R446
文章编号:1673-4130(2021)03-0356-04 **文献标志码:**A

Early diagnostic value of combined detection of serum Hcy, RBP and Cys C in gestational diabetes nephropathy^{*}

GONG Hui,GAO Lingjuan,CHEN Yajuan

Department of Clinical Laboratory, Obstetrics and Gynecology Hospital of Nanjing Medical University/
Nanjing Maternal and Child Health Hospital, Nanjing, Jiangsu 210004, China

Abstract:**Objective** To investigate the value of combined detection of homocysteine (Hcy), retinol binding protein (RBP) and cystatin C (Cys C) in early diagnosis of gestational diabetic nephropathy (DN). **Methods** Eighty-two cases of DN in pregnancy were selected from January 2012 to October 2019 in Obstetrics and Gynecology Hospital of Nanjing Medical University. The subjects were divided into early DN group (44 cases) and clinical DN group (38 cases), and 48 healthy pregnant women of the same pregnancy week were selected as the health control group. The levels of Hcy, RBP and Cys C were compared, and the diagnostic value of Hcy, RBP and Cys C were analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC curve). **Results** The level of Hcy, RBP and Cys C in clinical DN group were higher than those in early DN group ($P<0.01$). The sensitivity of the combined detection of Hcy, RBP and Cys C were higher than those of the combined detection of Hcy and RBP ($P<0.05$). The area under the ROC curve of Hcy, RBP and Cys C combined detection was 0.856. **Conclusion** Combined detection of Hcy, RBP and Cys C can improve the efficiency of early diagnosis of gestational DN.

Key words:diabetic nephropathy; homocysteine; retinol binding protein; cystatin C

妊娠期糖尿病是妊娠期间常见的并发症之一,其主要危害是引发血管病变^[1-2],其中糖尿病肾病(DN)是其全身微血管病变表现之一,及时对妊娠期 DN 进行早期诊断和治疗,对于改善不良妊娠结局具有重要的临床价值^[3-5]。近年来,一些新的评估损伤的生物标志物如同型半胱氨酸(Hcy)、视黄醇结合蛋白

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81571437)。
作者简介:宫辉,男,副主任技师,主要从事临床生化研究。
本文引用格式:宫辉,高玲娟,陈亚军.血清 Hcy、RBP 和 Cys C 联合检测在妊娠期糖尿病肾病的早期诊断价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(3):356-359.

(RBP)及胱抑素 C(Cys C)在检测糖尿病肾损伤方面具有较高的灵敏度和特异度^[6-8]。本研究通过联合检测血清 Hcy、RBP 和 Cys-c 水平,分析其在妊娠期 DN 早期诊断中的临床应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据《妊娠合并糖尿病临床诊断与治疗推荐指南(草案)》^[9]诊断标准、《中国 T2DM 防治指南(2010 年版)》^[10]关于 DN 的诊断标准,选取 2012 年 1 月至 2019 年 10 月南京医科大学附属妇产医院产前检查单胎孕妇中的 DN 患者 82 例为研究对象,孕妇年龄 23~36 岁,平均(27.4±3.9)岁。依据尿液微量清蛋白(mAlb)/肌酐(Cr)比值(UACR)将患者分成早期 DN 组(UACR 31~220 mg/g,44 例)和临床 DN 组(UACR>220 mg/g,38 例)。选取同期本院同孕周健康孕妇 48 例为健康对照组,孕妇年龄 22~36 岁,平均(27.5±4.4)岁。以上 3 组均排除既往有甲状腺疾病、肝、肾、心脏疾病、高血压、高血脂或精神疾病等。健康对照组、早期 DN 组和临床 DN 组的年龄、孕周、妊娠次数、分娩次数等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究获得患者知情同意并获得南京医科大学附属妇产医院伦理委员会批准,医学伦理号:妇医伦字(2011)13 号。

1.2 仪器与试剂 血清 Hcy 检测试剂盒由广州科方生物技术股份有限公司提供;RBP 和 Cys C 检测试剂盒均购自重庆中元生物技术有限公司,以上指标检测仪器为美国贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪,采用胶乳增强免疫比浊法进行检测。肾损伤指标 Cr 和 mAlb 检测试剂盒购自德赛诊断系统(上海)有限公司,检测仪器为德国西门子 B 型钠尿酸特定蛋白仪及配套试剂,采用免疫散射比浊法进行检测,尿液 $UACR(mg/g)=mAlb/Cr\times 8\ 840$ 。以上各项指标的检测均严格按照试剂说明书及全国临床检验操作规程(第 4 版)^[11]进行。

1.3 方法 研究对象于清晨空腹采集静脉血 4.0 mL,待其自然凝固后,以 4 000 r/min 离心 10 min,血清分离后上机检测;如无法立即检测,于-80℃冰箱保存,所有标本避免脂血、溶血和黄疸。

1.4 统计学处理 应用 SPSS18.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用 Pearson 线性相关进行相关性分析。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 Hcy、RBP 和 Cys C 对妊娠期 DN 的早期诊断效能;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组血清 Hcy、RBP 和 Cys C 水平比较 血清

Hcy、RBP 和 Cys C 水平在早期 DN 组均明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$);Hcy、RBP 和 Cys C 水平在临床 DN 组均明显高于早期 DN 组,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。

表 1 3 组血清 Hcy、RBP 和 Cys C 水平比较($\bar{x}\pm s$,mg/L)

组别	<i>n</i>	Hcy	RBP	Cys C
健康对照组	48	10.20±3.87	39.06±13.00	0.71±0.32
早期 DN 组	44	19.60±13.20	167.20±14.70	1.64±0.36
临床 DN 组	38	25.50±11.40	349.20±23.60	3.59±0.09
t_1		11.270	42.780	15.170
P_1		<0.001	0.001	0.001
t_2		5.980	35.340	21.790
P_2		<0.001	0.001	0.001

注: t_1 、 P_1 表示早期 DN 组与健康对照组比较; t_2 、 P_2 表示临床 DN 组与早期 DN 组比较。

2.2 血清 Hcy、RBP、Cys C 对妊娠期 DN 的早期诊断效能 将生物学指标 Hcy、RBP 和 Cys C 进行以下 3 种组合:Hcy、Hcy、RBP 2 项指标联合检测,Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测。Hcy 单独检测早期诊断妊娠期 DN 的 ROC 曲线下面积为 0.582(95%CI:0.335~0.828),诊断灵敏度为 37.8%,特异度为 91.7%;Hcy、RBP 2 项指标联合检测早期诊断妊娠期 DN 的 ROC 曲线下面积为 0.591(95%CI:0.333~0.850),诊断灵敏度为 51.2%,特异度为 85.4%。Hcy、RBP 2 项指标联合检测的曲线下面积、灵敏度均高于 Hcy 单独检测。Hcy、RBP 和 Cys C 3 项指标联合检测早期诊断妊娠期 DN 的 ROC 曲线下面积为 0.856(95%CI:0.000~0.996),诊断灵敏度为 70.7%,特异度为 83.3%。Hcy、RBP 和 Cys C 3 项指标联合检测曲线下面积、灵敏度均明显高于 Hcy、RBP 2 项指标联合检测。Hcy、RBP 2 项指标联合检测的阴性预测值、阳性预测值与 Hcy 单独检测比较,差异无统计学意义($P>0.05$);Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测的阴性预测值、阳性预测值与 Hcy、RBP 2 项指标联合检测比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1、表 2。

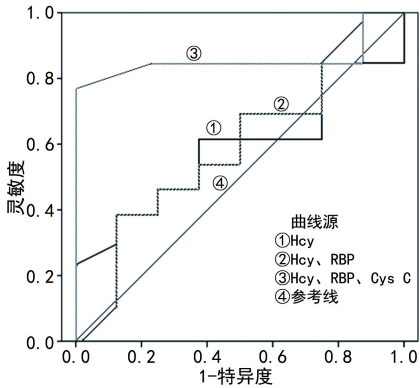


图 1 Hcy、RBP、Cys C 早期诊断妊娠期 DN 的 ROC 曲线

表 2 Hcy、RBP、Cys C 对妊娠期 DN 的早期诊断效能

指标	曲线下面积	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)	阴性预测值(%)	阳性预测值(%)
Hcy	0.582	0.335~0.828	37.8	91.7	46.3	88.6
Hcy、RBP	0.591	0.333~0.850	51.2	85.4	50.6	85.7
Hcy、RBP、Cys C	0.856	0.000~0.996	70.7	83.3	62.5	87.8

3 讨 论

DN 早期病情进展缓慢,且发病隐匿,不易被察觉,而妊娠期糖尿病患者由于长期处于高滤过、高灌注状态,肾小球毛细血管壁负荷加重,极易引发肾脏器质性病变。目前,针对妊娠期 DN 的实验室检测指标主要为血尿素氮、Cr 及尿蛋白定性等,但以上实验室指标监测肾脏功能具有滞后性,当其显著增高时,表明患者的肾脏已经受到严重损伤,极易引发不良妊娠结局,对母婴健康造成严重影响^[12-13]。因此,寻找理想的生物学指标,用于妊娠期 DN 的早期诊断,改善不良妊娠结局,具有重要的临床意义和价值。

Hcy 作为一种蛋氨酸和半胱氨酸代谢的中间产物,在正常情况下,主要经由肝脏、肾脏进行代谢,血液中水平极低。近年研究证实,糖尿病患者存在 Hcy 的代谢异常,随着 DN 的进展,Hcy 经由肾脏的清除能力显著减弱,血清 Hcy 水平不断升高,又进一步持续性导致血管内皮和肾脏组织的损伤^[14-15]。RBP 是由肝脏合成并分泌的一种半衰期很短的相对分子质量低的运载蛋白,游离的 RBP 主要从肾小球滤过,又被近端肾小管重吸收,当肾小球及肾小管早期出现轻微受损时,肾小球滤过率和肾血流量降低会导致血中 RBP 的累积,因此,对血清中 RBP 水平进行检测能够及早反映肾脏滤过功能受损及受损程度。已有研究发现,RBP 可作为反应肾脏早期损伤的重要生物学标志物^[16-17];Cys C 是一种相对分子质量低、带正电荷、碱性非糖化的蛋白质,属于半胱氨酸蛋白酶抑制剂,其在人体组织器官中表达稳定。因其只能经由肾脏代谢,被肾小球滤过后经近曲小管重吸收,最终被代谢清除,因此,肾脏出现轻微损伤,即会表现为血清 Cys C 水平显著升高,Cys C 一直作为判断肾小球病变的可靠标志物,尤其对肾小球的早期损伤或轻微损伤具有较好的灵敏度^[18]。本研究数据显示,早期 DN 组孕妇血清中 RBP 与 Cys C 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),但随着 DN 病情的加重,临床 DN 组孕产妇血清中 Hcy、RBP、Cys C 水平均显著高于早期 DN 组,提示可将 Hcy、RBP 和 Cys C 指标作为 DN 早期预警和诊断的生物学指标。

以往研究证实,单一选择一种生物学标志物作为妊娠期 DN 早期筛查和诊断的指标,具有片面性,本

研究分别采用 Hcy、Hcy、RBP 2 项指标联合检测,Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测 3 种组合模式,对其灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值等进行比较。本研究数据表明,Hcy、RBP 2 项联合检测的阴性预测值、阳性预测值与 Hcy 单独检测比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示仅将 Hcy 与 RBP 组合进行 DN 的诊断具有不全面性。本研究将 Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测用于 DN 的诊断,实验结果发现其灵敏度显著提高,差异有统计学意义($P<0.05$),还能排除单独检测结果假阳性的病例,具有对 DN 进行早期诊断的能力。同期检测数据显示,Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测的阴性预测值、阳性预测值与 Hcy、RBP 2 项指标联合检测比较,差异无统计学意义($P>0.05$),分析原因可能与本研究样本量小有关,在今后仍需要更大的样本量及进一步深入研究来探索联合检测模式用于 DN 早期诊断的临床价值。本研究还进一步构建了 Hcy、RBP、Cys C 单独或联合检测用于妊娠期 DN 早期诊断的 ROC 曲线图,结果显示,Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测对妊娠期 DN 早期诊断的 ROC 曲线下面积可达 0.856,显著高于 Hcy 单独检测及 Hcy、RBP 2 项指标联合检测,表明 Hcy、RBP、Cys C 3 项指标联合检测对妊娠期 DN 早期诊断具有较高价值。

参考文献

[1] 王红红,骆硕,董巍巍,等.妊娠糖尿病 IADPSG 新诊断标准与母婴结局分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(18):2205-2208.

[2] SPOTTI D. Pregnancy in women with diabetic nephropathy[J].J Nephrol,2019,32(3):379-388.

[3] WANG F,LU J D,ZHU Y,et al. Renal outcomes of pregnant patients with immunoglobulin a nephropathy:a systematic review and meta-analysis [J]. Am J Nephrol,2019,49(3):214-224.

[4] ZHAO Y,LIU J,TEN S,et al. Plasma heparanase is associated with blood glucose levels but not urinary microalbumin excretion in type 2 diabetic nephropathy at the early stage[J]. Ren Fail,2017,39(1):698-701.

[5] PAPADOPOULOU-MARKETOU N,KANAKA-GANTENBEIN C,MARKETOS N,et al. Biomarkers of dia-

- betic nephropathy; a 2017 update[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2017, 54(5): 326-342.
- [6] KUNDI H, KIZILTUNC E, ATES I, et al. Association between plasma homocysteine levels and end-organ damage in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients [J]. Endocr Res, 2017, 42(1): 36-41.
- [7] ABBASI F, MOOSAIE F, KHALOO P, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and retinol-binding protein-4 as biomarkers for diabetic kidney disease[J]. Kidney Blood Press Res, 2020, 45(2): 222-232.
- [8] SIDDIQI Z, KAROLI R, KAULA, et al. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C as early markers of diabetic nephropathy[J]. Ann Afr Med, 2017, 16(3): 101-106.
- [9] 杨慧霞. 妊娠合并糖尿病临床诊断与治疗推荐指南(草案)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2007, 23(6): 476.
- [10] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 T2DM 防治指南(2010 年版)[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2012, 19(2): 5.
- [11] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 10.
- [12] HE J, ZHENG W, LU M, et al. A controlled heat stress during late gestation affects thermoregulation, productive performance, and metabolite profiles of primiparous sow [J]. J Therm Biol, 2019, 81: 33-40.
- [13] 王莉平, 丁丹丹, 资捷, 等. 妊娠高血压疾病患者血 CysC、UA、BUN 及 Cr 检测的临床应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(4): 29-30.
- [14] ZHANG L, NIU J, ZHANG X, et al. Metformin can alleviate the symptom of patient with diabetic nephropathy through reducing the serum level of hcy and IL-33[J]. Open Med (Wars), 2019, 14: 625-628.
- [15] 王小芳, 梁卓. 妊娠期妇女同型半胱氨酸水平变化的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(3): 1105-1107.
- [16] LI A, YI B, LIU Y, et al. Urinary NGAL and RBP are biomarkers of normoalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes mellitus [J]. J Immunol Res, 2019, 2019: 5063089.
- [17] WU J, SHAO X, LU K, et al. Urinary RBP and NGAL levels are associated with nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(2): 594-602.
- [18] PAN Y, JIANG S, QIU D, et al. Comparing the GFR estimation equations using both creatinine and cystatin c to predict the long-term renal outcome in type 2 diabetic nephropathy patients[J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(8): 1478-1487.
- (收稿日期: 2020-05-13 修回日期: 2020-08-29)
- (上接第 355 页)
- [30] JIAO X L, ZHANG S Y, JIAO J, et al. Promoter methylation of SEPT9 as a potential biomarker for early detection of cervical cancer and its overexpression predicts radioresistance[J]. Clin Epigenet, 2019, 11(1): 120-126.
- [31] 丁清清, 张皓, 许海尘, 等. 胞裂蛋白 9 基因甲基化在老年人群结直肠癌筛查中的意义[J]. 中华老年医学杂志, 2015, 34(12): 1348-1350.
- [32] 张立营, 陈朴, 高鹏, 等. SEPT9 基因甲基化在直肠癌早期诊断中应用的临床意义[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(8): 142-144.
- [33] 金鹏. MMR 蛋白在雌激素致结肠癌细胞凋亡中的作用及 SEPT9 检测结直肠癌的研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [34] TONG J, WANG Y, CHANG B, et al. Associations between tumor markers and the risk of colorectal polyp recurrence in Chinese people. [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(4): 6397-6405.
- [35] 赵慧霞, 李秋文, 董伟伟, 等. 粪便 SEPT9 基因甲基化检测在结直肠癌早期诊断中的应用研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6(10): 2599-2602.
- [36] 郁迪, 张小虎, 鲁辛辛. 血清 SEPT9 基因甲基化检测在结直肠癌诊断中的应用[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(9): 687-689.
- [37] 乔宝军. 粪便脱落细胞学和外周血标志物筛查结直肠癌的研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [38] HARIHARAN R. Utility of the methylated SEPT9 test for the early detection of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy[J]. RMD Open, 2020, 7(1): e000355.
- [39] 杨宏宇, 杨福全. SEPT9 在结直肠癌早期检测中的研究进展[J/CD]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2019, 8(5): 496-500.
- (收稿日期: 2020-05-02 修回日期: 2020-08-20)