

血清胱抑素 C 和尿 NAG 联合检测 在糖尿病肾病早期诊断中的应用

崔红萍 赵滢 黄松苓 吴浩能

作者单位: 655000 云南曲靖, 云南省曲靖市第二人民医院检验科(崔红萍)
650000 云南昆明, 昆明医科大学第一附属医院检验科(黄松苓、吴浩能、赵滢)
通信作者: 赵滢, Email: Zhaoying2740@163.com
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.04.007

【摘要】 目的 探讨血清胱抑素 C(CysC)和尿 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶(NAG)联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的应用价值。方法 选择 2023 年 1—6 月在昆明医科大学第一附属医院内分泌科就诊的 476 例 2 型糖尿病患者作为研究对象,根据尿白蛋白(ALB)/肌酐(Cr)比值(UACR)水平不同将患者分为无蛋白尿组(UACR<30 mg/g Cr; 329 例)、微量白蛋白尿组(30 mg/g Cr≤UACR<300 mg/g Cr; 107 例)和大量蛋白尿组(UACR≥300 mg/g Cr; 40 例)。使用全自动生化分析仪,采用胶乳凝集法检测血清 CysC, 2-氯-4-硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷底物法检测尿 NAG,免疫比浊法检测 ALB,酶法检测 Cr 水平。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)并计算 ROC 曲线下面积(AUC),考察血清 CysC 和尿 NAG 单独与联合检测对糖尿病肾病的诊断效能。结果 无蛋白尿组的 CysC、尿 NAG 水平与对照组比较差异均无统计学意义;大量蛋白尿组的 CysC 和尿 NAG 水平均明显高于微量白蛋白尿组、无蛋白尿组和对照组〔CysC (mg/L): 1.79±0.76 比 1.21±0.78、0.83±0.23、0.79±0.13, 尿 NAG(U/L): 21.34±15.75 比 15.61±13.01、11.80±8.78、10.26±5.43,均 P<0.05〕;且微量白蛋白尿组的 CysC 和尿 NAG 水平均明显高于无蛋白尿组和对照组(均 P<0.05)。ROC 曲线分析显示,血清 CysC 和尿 NAG 联合检测对糖尿病肾病早期诊断的 AUC 为 0.998,95% 可信区间(95%CI)为 0.996~1.000,明显高于血清 CysC 和尿 NAG 单独检测(AUC 分别为 0.676、0.608,95%CI 分别为 0.614~0.737、0.547~0.670)。结论 各组受检者血清 CysC、尿 NAG 水平有明显差异,且与病情严重程度有关;血清 CysC 可作为糖尿病肾病的诊断标志物,但不具备早期诊断效能;尿 NAG 可作为糖尿病肾病早期诊断的血清标志物,两项指标联合检测能提高糖尿病肾病的早期诊断效能。

【关键词】 胱抑素 C; N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶; 尿白蛋白/肌酐比值; 糖尿病肾病

Application of combined detection of serum cystatin C and urinary NAG in early diagnosis of diabetic nephropathy

Cui Hongping, Zhao Ying, Huang Songling, Wu Haoneng. Department of Clinical Laboratory, Qujing Second People's Hospital, Qujing 655000, Yunnan, China (Cui HP); Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650000, Yunnan, China (Huang SL, Wu HN, Zhao Y)
Corresponding author: Zhao Ying, Email: Zhaoying2740@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the application value of combined detection of serum cystatin C (CysC) and urinary N-acetyl-β-D-glucosidase (NAG) in the early diagnosis of diabetic nephropathy. **Methods** A total of 476 patients with type 2 diabetes mellitus in endocrinology department of the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from January to June 2023 were selected as research objects. According to different levels of urinary albumin (ALB)/creatinine (Cr) ratio (UACR), the patients were divided into non proteinuria group (UACR < 30 mg/g Cr; 329 cases), microalbuminuria group (30 mg/g Cr≤UACR < 300 mg/g Cr; 107 cases) and massive proteinuria group (UACR ≥ 300 mg/g Cr; 40 cases). Using a fully automated biochemical analyzer, the serum level of CysC was detected using latex agglutination method, urine NAG was detected using 2-chloro-4-nitrobenzene-N-acetyl-β-D-glucosamine substrate method, ALB was detected using immunoassay, and Cr was detected using enzyme method. The receiver operator characteristic (ROC) curve was drawn and the area under ROC curve (AUC) was calculated to investigate the diagnostic efficacy of serum CysC and urine NAG single and combined detection for diabetes nephropathy. **Results** There was no significant difference in the levels of CysC and urinary NAG between non proteinuria group and control group. The levels of CysC and urinary NAG in massive proteinuria group were significantly higher than those in microalbuminuria group,

non proteinuria group and control group [CysC (mg/L): 1.79 ± 0.76 vs. 1.21 ± 0.778 , 0.83 ± 0.23 , 0.79 ± 0.13 , urinary NAG (U/L): 21.34 ± 15.75 vs. 15.61 ± 13.01 , 11.80 ± 8.78 , 10.26 ± 5.43 , all $P < 0.05$], and the levels of CysC and urinary NAG in microalbuminuria group were significantly higher than those in non albuminuria group and control group (both $P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of combined detection of serum CysC and urine NAG for early diagnosis of diabetes nephropathy was 0.998, and 95% confidence interval (95%CI) was 0.996–1.000, which was significantly higher than those by serum CysC and urine NAG alone (AUC was 0.676, 0.608, and 95%CI was 0.614–0.737, 0.547–0.670, respectively). **Conclusions** There are significant differences in the levels of serum CysC and urine NAG among the tested subjects in each group, which are related to the severity of the condition. Serum CysC could be used as a diagnostic marker of diabetes nephropathy, but it does not have early diagnostic efficacy. Urinary NAG could be used as a serum marker for early diagnosis of diabetes nephropathy, and the combined detection of the two indicators could improve the early diagnostic efficacy of diabetes nephropathy.

【Key words】 Cystatin C; N-acetyl- β -D-glucosidase; Urinary albumin/creatinine ratio; Diabetic nephropathy

糖尿病是由不同病因和发病机制引起体内胰岛素绝对和相对不足导致的糖类、蛋白质和脂肪代谢紊乱,并以慢性高血糖为主要临床表现的全身性疾病。随着社会经济的发展和人民生活水平的提高,糖尿病的患病人数在迅速增加。据统计,我国目前糖尿病患者数已超过 4 000 万例,位居世界第二^[1-3]。

糖尿病肾病是糖尿病最常见、最严重的并发症之一,目前已成为慢性肾脏疾病的主要病因,20%~40% 的糖尿病患者将发展为糖尿病肾病,最终导致终末期肾病,需要肾脏替代治疗(renal replacement therapy, RRT)^[4-5]。糖尿病肾病的典型病理改变包括肾小球系膜基质增宽、肾小球基底膜增厚、足细胞丢失、肾小球硬化、小动脉壁玻璃样变和肾间质纤维化^[6-7]。有研究表明,肾小管的病理改变在糖尿病肾病中也具有一定作用。糖尿病肾病的早期临床症状不典型,常规肾功能生化指标也均表现正常,肾功能损伤超过 50% 时常规肾功能生化指标才表现异常。目前认为糖尿病肾病的早期肾脏病理改变大多是可逆的,如果能早期诊断并进行治疗,可以延缓或阻止病情发生发展,从而提高患者的生存和生活质量,并减轻经济负担。因此探索无创、快速的生化检测标志物对诊断早期糖尿病肾病至关重要。本研究选择昆明医科大学第一附属医院收治的 476 例 2 型糖尿病患者作为研究对象,探讨血清胱抑素 C (cystatin C, CysC) 和尿 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosidase, NAG)联合检测对糖尿病肾病的诊断价值,现将结果报告如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象与分组 选择 2023 年 1—6 月本院内分泌科的 476 例 2 型糖尿病患者作为研究对象,

根据尿白蛋白(albumin, ALB)/肌酐(creatinine, Cr)比值(urinary albumin/creatinine ratio, UACR)不同将患者分为无蛋白尿组(UACR < 30 mg/g Cr; 329 例)、微量白蛋白尿组(30 mg/g Cr \leq UACR < 300 mg/g Cr; 107 例)和大量蛋白尿组(UACR \geq 300 mg/g Cr; 40 例);另外选择同期本院 40 例健康体检者作为对照组。

1.1.1 纳入标准 ① 年龄 > 16 岁;② 生活能自理;③ 无其他慢性或急性病;④ 2 型糖尿病患者。

1.1.2 排除标准 其他特殊类型的糖尿病患者。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理审批(审批号:2023-038-01),所有检测均获得过患者或家属知情同意。

1.2 仪器与试剂 采用 cobas 8000 全自动生化分析仪(德国罗氏公司)对所有检测项目进行检测,血清 CysC、尿 Cr 检测试剂为德国罗氏公司原装配套试剂,尿 NAG 检测试剂购自长春汇力生物技术有限公司,尿 ALB 检测试剂购自南京德赛生物技术有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 血液标本的采集和处理 在患者清晨空腹状态下,排除药物等其他干扰,采集 3 mL 静脉血,以 3 500 r/min 离心 15 min 分离血清,采用全自动生化分析仪进行检测。

1.3.2 尿液标本的采集和处理 患者自主使用清洁容器留取 10 mL 清晨尿液,以 3 500 r/min 离心 5 min,采用全自动生化分析仪进行检测。

1.3.3 标本检测方法 采用胶乳凝集法检测血清 CysC,采用 2-氯-4-硝基苯-N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷底物法检测尿 NAG,采用免疫比浊法检测尿微量 ALB,采用酶法检测尿 Cr,血清 CysC、尿 NAG、

微量 ALB、尿 Cr 水平均采用全自动生化分析仪进行检测和分析。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用方差分析。绘制受试者工作特征曲线 (receiver operator characteristic curve, ROC 曲线) 并计算 ROC 曲线下面积 (area under ROC curve, AUC), 考察血清 CysC 和尿 NAG 单独与联合检测对糖尿病肾病诊断的特异度和敏感度, 从而评价其对糖尿病肾病的诊断价值。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 不同蛋白尿严重程度 2 型糖尿病患者与健康体检者的性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义 (均 P > 0.05)。见表 1。

表 1 糖尿病患者和健康体检者的一般资料比较

组别	例数 (例)	性别 (例)		年龄 (岁)	
		男性	女性	范围	均数 ($\bar{x} \pm s$)
对照组	40	25	15	17 ~ 85	52.88 ± 13.34
无蛋白尿组	329	201	128	17 ~ 81	55.74 ± 12.15
微量蛋白尿组	107	49	58	16 ~ 85	58.64 ± 14.02
大量蛋白尿组	40	27	13	30 ~ 81	56.98 ± 11.79

2.2 各组血清 CysC 和尿 NAG 水平比较 无蛋白尿组的 CysC 和尿 NAG 水平与对照组比较差异均无统计学意义 (均 P > 0.05); 微量蛋白尿组的 CysC 和尿 NAG 水平明显高于无蛋白尿组和对照组, 差异均有统计学意义 (均 P < 0.05); 大量蛋白尿组的 CysC 和尿 NAG 水平明显高于微量蛋白尿组、无蛋白尿组和对照组, 差异均有统计学意义 (均 P < 0.05)。见表 2。

表 2 各组研究对象 CysC 和尿 NAG 水平比较

组别	例数 (例)	CysC (mg/L)	NAG (U/L)
对照组	40	0.79 ± 0.13	10.26 ± 5.43
无蛋白尿组	329	0.83 ± 0.23	11.80 ± 8.78
微量蛋白尿组	107	1.21 ± 0.78 ^{ab}	15.61 ± 13.01 ^{ab}
大量蛋白尿组	40	1.79 ± 0.76 ^{abc}	21.34 ± 15.75 ^{abc}

注: CysC 为胱抑素 C, NAG 为 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶; 与对照组比较, ^aP < 0.05; 与无蛋白尿组比较, ^bP < 0.05; 与微量蛋白尿组比较, ^cP < 0.05

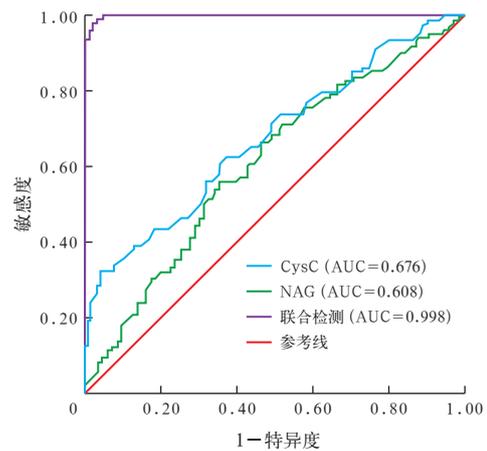
2.3 血清 CysC 和尿 NAG 单独与联合检测对早期糖尿病肾病的诊断效能 ROC 曲线分析结果显示, CysC 的最佳临界值为 1.23 mg/L, 敏感度为 33.0%, 特异度为 96.0%。该指标的约登指数为 0.284, AUC

为 0.676。NAG 的最佳临界值为 12.47 U/L, 敏感度为 56.1%, 特异度为 64.1%。其约登指数为 0.203, AUC 为 0.608, 表明 NAG 对这两组的区分表现出中等水平的有效性。血清 CysC 和尿 NAG 两者联合检测诊断早期糖尿病肾病时的 ROC 曲线显示敏感度为 98.0%, 特异度为 98.0%, 约登指数为 0.960, AUC 为 0.998。见表 3, 图 1。

表 3 CysC、尿 NAG 单独与联合检测对糖尿病肾病的诊断效能

指标	最佳临界值	敏感度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	95%CI
CysC	1.23	33.0	96.0	0.284	0.676	0.614 ~ 0.737
NAG	12.47	56.1	64.1	0.203	0.608	0.547 ~ 0.670
联合检测		98.0	98.0	0.960	0.998	0.996 ~ 1.000

注: CysC 为胱抑素 C, NAG 为 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间; 空白代表无此项



注: CysC 为胱抑素 C, NAG 为 N-乙酰-β-D 氨基葡萄糖苷酶, ROC 为受试者工作特征曲线, AUC 为 ROC 曲线下面积

图 1 CysC、尿 NAG 单独与联合检测诊断糖尿病肾病的 ROC 曲线

在上述生化指标中, 在微量蛋白尿组和大量蛋白尿组中血清 CysC 和尿 NAG 高于对照组, 且随蛋白尿量的增加而增高, 血清 CysC 和尿 NAG 联合检测的曲线下面积、灵敏度、特异度都优于单一项检测指标, 两者联合检测能够提高糖尿病肾病的检出率, 所以血清 CysC 和尿 NAG 都是诊断早期糖尿病肾病的有效生化标志物^[8-10], 这些指标的表现基于 ROC 曲线分析, 为临床上鉴别两组患者提供了重要的参考依据。

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病患者最严重的慢性微血管病变之一, 也是导致患者死亡的重要危险因素, 严重

威胁患者的健康。糖尿病肾病患者的早期肾损伤临床症状与体征不典型,如果病情进一步发展,会导致机体代谢紊乱,并发展为肾衰竭和尿毒症,给患者带来不可逆的肾损伤,加重患者的经济负担,并给临床治疗增加难度。因此本研究旨在探索简便、快速、创伤小的生化标志物诊断糖尿病早期肾病的临床应用价值。

CysC 是一种相对分子质量为 13 300 的非糖基化半胱氨酸蛋白酶抑制剂,在机体的有核细胞中具有稳定的表达,并以恒定速率释放到血液中。正常生理状态下, CysC 在血清中的水平不受年龄、性别、体质质量指数 (body mass index, BMI)、炎症、肌肉质量及蛋白质摄入量的影响。肾脏是 CysC 的代谢场所,血液循环中的 CysC 能够完全通过肾小球自由滤过,在近端肾小管上皮细胞中被重吸收并分解代谢^[11-12]。

NAG 属于一种溶酶体酶,相对分子质量较大,在近曲小管上皮细胞中的含量较高,正常情况下 NAG 无法透过肾小球滤过膜,若患者出现早期肾损伤,导致肾小管损伤,溶酶体酶释放,尿液中的 NAG 水平升高^[13]。NAG 是检测肾脏损伤,特别是肾小管缺血性坏死的敏感指标,该指标常作为早期肾损伤的指标之一^[14]。本研究结果显示,血清 CysC 和尿 NAG 在无蛋白尿组、微量蛋白尿组、大量蛋白尿组中的水平差异均有统计学意义,且与病情严重程度有关。

CysC 与 NAG 两者联合检测对糖尿病肾病早期诊断的 AUC 最大,因此血清 CysC 和尿 NAG 联合检测能提高糖尿病肾病的早期诊断效能,与阮淑韵等^[2]研究结果一致,血清 CysC 相对于尿 NAG 可作为糖尿病肾病肾损伤的生化标志物,但不具有糖尿病肾病早期肾损伤的诊断效能;尿 NAG 可作为糖尿病肾病早期肾损伤的生化标志物。

在早期糖尿病肾病中,血清 CysC 和尿 NAG 均呈高表达,且蛋白尿越严重,表达水平越高^[15]。两者联合检测反应了肾小球和肾小管脏不同结构的损伤,从而提高了糖尿病肾病早期诊断的敏感性,做到早发现、早治疗^[16]。但本研究样本量较少,还有待临床增加样本量,进一步对联合检测血清 CysC 和尿 NAG 对早期糖尿病肾病的临床诊断效能进行评估,以便为临床提供对糖尿病肾病早期有诊断价值的生

化标志物,从而提高早期糖尿病肾病的诊断率,延缓患者肾功能损伤的进展或逆转肾功能损伤,提高患者的生活和生存质量。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 向瑞. 血清 CYC、RBP、NGAL 在糖尿病肾病早期诊断中的应用价值 [D]. 西安: 西安医学院, 2020.
- 2 阮淑韵, 何晓韵, 吴浩存. 尿 NAG 与 UACR 在糖尿病肾病早期诊断中的应用价值 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2021, 31 (13): 98-99. DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.13.046.
- 3 高飞. 血清胱抑素和 $\beta 2$ 微球蛋白在 2 型糖尿病肾病早期诊断中的价值 [D]. 吉林: 吉林大学, 2013.
- 4 杨志清, 齐昊, 韩笑. 胱抑素 C、 $\beta 2$ 微球蛋白、尿酸在糖尿病肾病早期诊断中的价值 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31 (6): 641-644.
- 5 吴丽梅. 同型半胱氨酸、胱抑素 C 及尿微量白蛋白与尿肌酐比值对糖尿病肾病的诊断价值探讨 [J]. 中国现代药物应用, 2023, 17 (8): 64-67. DOI: 10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2023.08.018.
- 6 邝春玲, 鲁陈, 朱苏兰, 等. 尿液微量白蛋白、尿 $\beta 2$ -MG、尿 NAG、尿 CRE 联合检测在肾早期损伤中的临床应用分析 [J]. 现代诊断与治疗, 2022, 33 (13): 1949-1951.
- 7 孟继霞, 孙玉红. 血清同型半胱氨酸联合血清胱抑素 C 检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值探讨 [J]. 甘肃科技, 2023, 39 (5): 89-91, 95. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0952.2023.05.025.
- 8 兴芝博, 孙亚东. 糖尿病肾病早期诊断生物标志物的研究进展 [J]. 吉林医学, 2022, 43 (12): 3331-3334.
- 9 李佳佳, 黄皓, 陶立坚, 等. 糖尿病肾病主要发病机制的研究进展 [J]. 生命科学, 2023, 35 (3): 396-404.
- 10 常丽. 2 型糖尿病患者血清视黄醇结合蛋白、同型半胱氨酸、血脂与尿 ACR 的相关性 [D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2020.
- 11 樊新品. 胱抑素 C 在肾脏疾病诊断中的应用研究 [J]. 实用检验医师杂志, 2021, 13 (1): 19-21. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.01.007.
- 12 欧志强. 胱抑素 C 联合尿微量蛋白检测对早期糖尿病肾病的诊断价值 [J]. 实用检验医师杂志, 2018, 10 (2): 80-82. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.02.005.
- 13 齐昆青. 尿液内皮素-1、胱抑素 C、视黄醇结合蛋白和 NAG 酶对早期糖尿病肾病的诊断价值 [J]. 中国医学创新, 2014, 11 (2): 19-20, 21. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2014.02.010.
- 14 王丹丹. 中性粒细胞/淋巴细胞比例、胱抑素 C 和 $\beta 2$ 微球蛋白联合检测在 2 型糖尿病肾病早期诊断及肾功能损害预测中的价值 [D]. 新乡: 新乡医学院, 2022.
- 15 彭文晖. 联合检测 Cys-C、Hcy 和 RBP 在糖尿病肾病早期诊断中的价值分析 [J]. 中国实用医药, 2020, 15 (27): 29-31. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2020.27.011.
- 16 卢勇, 韦小婉. Hcy、Cys-C、hs-CRP、U $\beta 2$ -MG、UAlb 对糖尿病肾病的诊断价值 [J]. 临床医学研究与实践, 2023, 8 (20): 89-92. DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202320023.

(收稿日期: 2023-10-23)

(本文编辑: 邵文)