

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.19.016

ADPN、ANGPTL4、RBP 联合检测在 DKD 患者 早期诊断及预后评估中的应用

李 江, 范凯慧[△]

延安大学咸阳医院检验科, 陕西咸阳 712000

摘要:目的 探讨联合检测血清脂联素(ADPN)、人血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)、视黄醇结合蛋白(RBP)水平在糖尿病肾病(DKD)患者早期诊断及预后评估中的意义。**方法** 选择 2016 年 1 月至 2019 年 1 月该院收治的 120 例 DKD 患者作为疾病组,另选取同期体检健康者 120 例作为对照组,分析两组及不同严重程度 DKD 患者的血脂、ADPN、ANGPTL4、RBP 水平及相关性。**结果** 疾病组三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)水平高于对照组($P < 0.05$)。而疾病组患者中,不同病情程度 DKD 患者 LDL、HDL 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),TC、TG 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着患者病情程度加重,TC、TG 水平升高($P < 0.05$)。疾病组 ADPN、ANGPTL4 水平低于对照组,RBP 水平高于对照组($P < 0.05$),而疾病组患者中,不同病情程度患者血清 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着患者病情程度加重,ADPN、ANGPTL4 水平降低,RBP 水平上升($P < 0.05$)。低水平 ADPN、ANGPTL4,高水平 RBP 均为 DKD 患者严重程度的独立危险因素,联合检测的受试者工作特征曲线下面积及检测灵敏度均高于单独检测,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 联合检测 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平对其不同严重程度的 DKD 患者有较好诊断价值,建议临床推广。

关键词:糖尿病肾病; 血清脂联素; 人血管生成素样蛋白 4; 视黄醇结合蛋白

中图法分类号:R587.2;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)19-2806-04

Application of combined detection of ADPN, ANGPTL4 and RBP in early diagnosis and prognostic evaluation of patients with DKD

LI Jiang, FAN Kaihui[△]Department of Clinical Laboratory, Xianyang Hospital of Yan'an
University, Xianyang, Shaanxi 712000, China

Abstract: Objective To explore the significance of combined detection of serum adiponectin (ADPN), human angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4), and retinol binding protein (RBP) levels in the early diagnosis and prognostic evaluation of patients with diabetic kidney disease (DKD). **Methods** A total of 120 cases of DKD patients in our hospital from January 2016 to January 2019 were selected as the disease group, and 120 cases of healthy people in the same period were selected as the control group. The levels and correlation of blood lipid, ADPN, ANGPTL4 and RBP in the two groups and patients with different severity were analyzed. **Results** The levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL) in the disease group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). In the disease group, there were no significant difference in LDL and HDL levels among DKD patients with different disease degrees ($P > 0.05$), but there were significant difference in TC and TG levels ($P < 0.05$), and with the severity of the disease, TC and TG levels increased ($P < 0.05$). The levels of ADPN, ANGPTL4 in the disease group were lower than those in the control group, the level of RBP was higher than control group ($P < 0.05$). The levels of serum ADPN, ANGPTL4 and RBP in patients with different disease severity were significantly different ($P < 0.05$), and with the severity of the disease, the levels of ADPN and ANGPTL4 decreased, and the level of RBP increased ($P < 0.05$). Low levels of ADPN, ANGPTL4 and high level of RBP were all independent risk factors for the severity of DKD patients. The area under work characteristic curve and detection sensitivity of joint detection were higher than those of single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined detection of ADPN, ANGPTL4 and RBP levels has a good diagnostic value for DKD patients of different severity, which is recommended for clinical application.

Key words: diabetic kidney disease; serum adiponectin; human angiotensin-like protein 4; retinol binding protein

近年来,随着饮食结构的改变,糖尿病的发病率呈上升趋势。糖尿病肾病(DKD)是其最为严重的并发症之一^[1],有研究显示,DKD 患者的病死率明显高于糖尿病患者^[2]。但是 DKD 患者的临床症状较为隐匿,发病机制较为复杂,当患者出现蛋白尿等症状时,其肾功能损伤已经达到不可逆状态^[3]。所以,寻找 DKD 患者早期生化指标的改变规律,对于 DKD 患者的早期诊断和预后分析具有重要意义。血清脂联素(ADPN)为脂肪组织分泌的胰岛素抵抗性负性调节因子,研究显示,其血清水平与患者的蛋白尿排泄量呈正相关^[4]。人血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)与糖尿病患者的糖代谢紊乱和胰岛素抵抗有关;视黄醇结合蛋白(RBP)表达水平,可在一定程度上反映患者的肾脏损伤情况。本研究通过分析 ADPN、ANGPTL4、RBP 联合检测在 DKD 患者早期诊断及预后评估中的价值,为临床诊断和治疗提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 1 月至 2019 年 1 月本院收治的 2 型糖尿病患者 120 例作为疾病组,男 57 例,女 63 例;年龄 55~82 岁,平均(60.6±3.5)岁;平均体质指数(24.15±2.67)kg/m²。再根据病情程度分为单纯糖尿病组 39 例,微量蛋白尿(尿蛋白 300~500 mg/d)DKD 组 34 例,临床蛋白尿(尿蛋白 >500 mg/d)DKD 组 32 例,终末期 DKD 组 15 例。另选取本院同期体检健康者 120 例作为对照组,男 53 例,女 67 例;年龄 53~79 岁,平均(59.7±4.1)岁;平均体质指数(25.08±2.96)kg/m²。各组性别、年龄、体质指数比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入标准:(1)DKD 患者符合《糖尿病肾病防治专家共识(2014 年版)》中关于 DKD 的诊断标准^[5],24 h 尿蛋白定量 0.3~1.0 g,同时符合 2006 年世界卫生组织规定的 2 型糖尿病诊断的标准^[6],空腹血糖 >7.0 mmol/L,糖耐量试验中口服 75 g 葡萄

糖的 2 h 后血糖 ≥11.1 mmol/L;(2)服用二甲双胍、磺脲类药物降糖;(3)采用胰岛素、噻唑烷二酮类药物治疗。排除标准:(1)合并有恶性肿瘤;(2)合并慢性呼吸系统疾病及其他原因所致的慢性肾脏疾病等;(3)精神障碍;(4)依从性差。各组研究对象均签署知情同意书,且本研究经本院伦理委员会论证通过。

1.2 方法 入院第 2 天清晨空腹抽取外周静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,-80 °C 储存。采用 RLMax 型全自动生化分析仪(购自德国西门子公司)测定受试者的血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)水平。采用酶联免疫吸附测定检测血清 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平,仪器为 NDM-9602G 型全自动酶标分析仪(购自北京普朗新技术有限公司)。所用试剂均购自美国 RD 公司,均在有效期内使用,严格按照仪器说明书的实验步骤进行所有操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件对数据进行分析,计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;使用多因素 Logistic 回归分析对不同严重程度 DKD 危险因素进行分析;绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)判断 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平的诊断价值,采用 Hanley-McNeil 方法比较 ROC 曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血脂情况比较 疾病组 TC、TG、LDL、HDL 水平高于对照组($P<0.05$);不同病情程度患者 LDL、HDL 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),TC、TG 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$);随着病情程度的加重,患者 TC、TG 水平升高($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组血脂情况比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分组	n	TC	TG	LDL	HDL
对照组	120	3.75±1.03	1.14±0.13	2.29±0.37	0.92±0.08
疾病组	120	4.71±1.11 ^a	1.29±0.25 ^a	2.91±1.09 ^a	1.04±0.04 ^a
单纯糖尿病组	39	4.12±1.12	1.23±0.22	2.89±1.21	1.01±0.09
微量蛋白尿 DKD 组	34	4.25±1.09 ^b	1.36±0.29 ^b	2.71±0.62	1.05±0.31
临床蛋白尿 DKD 组	32	4.45±1.13 ^{bc}	1.47±0.26 ^{bc}	3.06±0.13	1.09±0.05
终末期 DKD 组	15	4.56±1.02 ^{bed}	1.55±0.12 ^{bed}	3.14±0.10	1.15±0.15

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与单纯糖尿病组比较,^b $P<0.05$;与微量蛋白尿 DKD 组比较,^c $P<0.05$;与临床蛋白尿 DKD 组比较,^d $P<0.05$ 。

2.2 各组 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平比较 疾病组血清 ADPN、ANGPTL4 水平低于对照组,RBP 水

平高于对照组($P<0.05$)。不同病情程度患者血清 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平比较,差异有统计学意

义($P < 0.05$);随着病情程度的加重,患者 ADPN、ANGPTL4 水平降低,RBP 水平升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组 ADPN、ANGPTL4、RBP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	ADPN (mg/L)	ANGPTL4 (ng/mL)	RBP (mg/L)
对照组	120	8.75±1.03	34.14±1.22	47.29±2.32
疾病组	120	6.41±1.22 ^a	22.29±1.09 ^a	65.91±2.09 ^a
单纯糖尿病组	39	7.52±1.10	29.23±1.32	51.89±2.31
微量蛋白尿 DKD 组	34	6.75±1.01 ^b	27.36±1.24 ^b	62.13±2.20 ^b
临床蛋白尿 DKD 组	32	5.45±1.31 ^{bc}	25.47±1.11 ^{bc}	73.06±2.31 ^{bc}
终末期 DKD 组	15	4.65±1.21 ^{bcd}	19.56±1.24 ^{bcd}	92.71±2.61 ^{bcd}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与单纯糖尿病组比较,^b $P < 0.05$;与微量蛋白尿 DKD 组比较,^c $P < 0.05$;与临床蛋白尿 DKD 组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.3 DKD 患者危险因素分析 通过对不同严重程度 DKD 患者多因素 Logistic 回归分析,血清低水平 ADPN、ANGPTL4,高水平 RBP 均为 DKD 患者严重程度的独立危险因素,见表 3。

表 3 DKD 患者危险因素分析

因素	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%置信区间 (CI)
ADPN	-1.018	2.361	1.322	0.001	1.319	1.199~1.926
ANGPTL4	-1.062	3.269	1.333	0.002	1.632	1.331~2.320
RBP	-0.369	4.139	1.691	0.000	1.989	1.632~2.065

2.4 单独检测及联合检测对 DKD 患者严重程度的诊断效能分析 通过对不同严重程度 DKD 患者的诊断效能比较分析,联合检测的 AUC 及检测灵敏度均高于单独检测,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4~6。

表 4 单独检测及联合检测对微量蛋白尿 DKD 组患者诊断效能分析

项目	准确度 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI	<i>P</i>
ADPN	35.06	77.78	21.05	0.675	0.520~0.872	0.017
ANGPTL4	53.25	50.00	71.93	0.603	0.600~0.746	<0.001
RBP	44.81	63.77	43.86	0.692	0.607~0.816	<0.001
联合检测	37.66	94.83	3.45	0.800	0.611~0.981	<0.001

表 5 单独检测及联合检测对临床蛋白尿 DKD 组患者诊断效能分析

项目	准确度 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI	<i>P</i>
ADPN	71.05	37.96	82.72	0.778	0.762~0.869	<0.001
ANGPTL4	64.47	42.86	74.67	0.792	0.762~0.870	<0.001
RBP	41.45	69.84	28.79	0.732	0.760~0.871	<0.001
联合检测	38.16	93.10	4.76	0.880	0.123~0.901	<0.001

表 6 单独检测及联合检测对终末期 DKD 组患者诊断效能分析

项目	准确度 (%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC	95%CI	<i>P</i>
ADPN	66.21	43.75	76.06	0.771	0.762~0.864	<0.001
ANGPTL4	60.00	47.13	62.16	0.776	0.602~0.800	<0.001
RBP	42.07	72.13	36.17	0.773	0.755~0.852	<0.001
联合检测	40.00	93.10	5.19	0.872	0.111~0.891	<0.001

3 讨论

DKD 是临床上最常见的由肾小球和肾小管病变引起的一种具有严重危害性的微血管并发症,也是导致糖尿病患者死亡的重要因素之一^[7]。研究证实,高糖诱导的肾损伤,氧化应激的增加,细胞因子和趋化因子的参与,细胞凋亡,线粒体功能障碍等因素参与 DKD 的发生、发展^[8]。DKD 较为隐匿,诊断较难,同时其病情进展有不同的转归,若发展到终末期肾脏病,可引起肾衰竭,甚至死亡^[9],而 DKD 患者早期肾功能损伤有一定的可逆性,所以若能及时采取临床干预措施进行治疗,可在一定程度上阻止 DKD 患者的病情继续发展^[10]。

本研究中,ADPN 是脂肪细胞分泌的胰岛素负性调节因子,可以增强患者的胰岛素活性,降低患者的内皮炎性反应,同时,对于血管动脉硬化具有一定的抑制作用^[11]。ADPN 位于染色体 3q27,全基因组扫描揭示此区域含有 2 型糖尿病和代谢综合征的易感基因^[12],其与糖尿病高血糖所致炎症、氧化应激损伤有关,其在 DKD 早期发生、发展中发挥重要作用,可通过调控转化生长因子等细胞因子的表达及调控 AMPK 信号通路等改善肾细胞内氧化应激反应状态,有助于改善肾脏氧化应激损伤^[13]。本研究中,疾病组患者的 ADPN 水平低于对照组,且随着 DKD 的病情加重,患者的 ADPN 表达水平呈下降趋势,分析认为随着患者的肾脏损伤及微量蛋白尿的形成,患者血管内皮炎性反应增加,胰岛细胞分泌功能不足,ADPN 水平下降,脂代谢水平不足,患者的血脂水平有上升趋势。从患者的血脂水平分析,随着患者 DKD 病情的加重,患者的 TG 及 TC 水平呈上升趋势。周瑞君等^[14]根据 24 h 尿微量清蛋白水平,将 DKD 分为正常组、微量组和大量组,并设健康人群作为对照组,发现 DKD 患者血清 ADPN 水平低于健康人群,且 DKD 不同分期患者血清 ADPN 水平差异较大,随肾脏损害程度加重,血清 ADPN 水平逐渐升高,但仍低于健康人群,与本研究结论一致。ANGPTL4 主要是由肾脏足细胞过度分泌,以及由此造成的唾液酸化作用不足,最终导致患者的负电荷硫酸类肝素蛋白与 AN-GPTL4 相互过度结合,最终造成肾小球基底膜电位的改变,通过肾小球跨膜转运的电荷改变作用力,加

剧对患者的肾脏损伤,形成恶性循环。本研究中,疾病组患者血清 ANGPTL4 水平明显低于对照组,且随着病情加重,患者血清 ANGPTL4 水平明显下降,提示大量血清 ANGPTL4 与带负电荷的硫酸类肝素蛋白相互结合,造成患者基底膜电位发生改变,最终影响患者的肾功能。李文娜等^[15]分析了血清 ANGPTL4 在 DKD 患者中的变化,结果显示患者血清 ANGPTL4 水平下降,尿液 ANGPTL4 水平上升,其变化情况与患者的疾病进展呈现负相关,与本研究类似。血清 RBP 是一条单肽链,其相对分子质量为 21.2×10^3 ,通常与视黄醇等结合形成复合物,协助转运视黄醇。RBP 主要是由肝脏合成,通过肾小球滤过,并由肾小管重吸收和降解。当机体肾脏受到损伤后,肾小球滤过功能降低,导致血清 RBP 水平升高,因此可以检测血清 RBP 的水平反映肾功能^[16]。本研究显示,与健康人群相比,DKD 患者的 RBP 水平上升,且随着病情加重,RBP 水平升高更为明显,提示由于患者的肾脏重吸收能力下降,患者的肾功能损伤程度加重,其 RBP 水平上升。詹颢等^[17]在对 DKD 的早期诊断中指出,随着患者 RBP 水平上升,患者的肾功能损伤加剧。张如霖等^[18]报道,DKD 患者血清 RBP 水平与病情严重程度呈正相关,提示 RBP 可作为判断肾功能受损的重要指标,这与本研究结果一致。另外,联合检测对不同严重程度 DKD 患者的诊断效能分析,联合检测的诊断灵敏度和 AUC 均高于单独检测,对于疾病的早期诊断和治疗效果评价均具有良好的作用。

综上所述,联合检测血清 ADPN、ANGPTL4、RBP 的表达水平,对于 DKD 患者的早期诊断、干预具有预警价值,且对其不同严重程度的肾脏损伤具有较高的诊断灵敏度,建议临床推广。下一步将增加样本量和联合检测血清指标,以期更精准预测和诊断 DKD,实施早期药物干预。

参考文献

- [1] 吴欣,黄健,刘畅,等. 1,25-二羟维生素 D₃ 对 2 型糖尿病肾病患者血管生成素样蛋白 4 水平的影响[J]. 实用医学杂志,2017,33(13):2201-2204.
- [2] 孙瑶,周琦,吕红彬. 血管生成素样蛋白 4 在糖尿病视网膜病变中作用的研究进展[J]. 眼科新进展,2016,36(5):497-500.
- [3] 胡凤霞,徐莹,李春,等. 汉黄芩苷对糖尿病肾病大鼠肾组织中 ANGPTL-4 蛋白表达的影响[J]. 环球中医药,2018,11(1):19-25.
- [4] 孙瑶,吕红彬,周琦,等. 血管生成素样蛋白 4(ANGPTL4)

在增生型糖尿病视网膜病变患者血清和玻璃体中的表达[J]. 眼科新进展,2017,37(1):49-51.

- [5] 中华医学会糖尿病学分会微血管并发症学组. 糖尿病肾病防治专家共识(2014 年版)[J]. 中华糖尿病杂志,2014,6(11):792-801.
- [6] 国际内分泌代谢杂志编辑部. 糖尿病诊疗标准(二):美国糖尿病学会(ADA)2005 年公布[J]. 国际内分泌代谢杂志,2006,26(1):1.
- [7] PAPAPOPOULOU-MARKETOU N, PASCHOU S A, MARKETOS N, et al. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. Minerva Med,2018,109(3):218-228.
- [8] SIFUENTES-FRANCO S, PADILLA-TEJEDA D E, CARRILLO-IBARRA S, et al. Oxidative stress, apoptosis, and mitochondrial function in diabetic nephropathy[J]. Int J Endocrinol,2018,2018:1875870.
- [9] 葛美层. 血清超敏 C 反应蛋白、胱抑素-C 和同型半胱氨酸的高表达对 2 型糖尿病肾病的临床诊断价值[J]. 疾病监测与控制杂志,2017,11(3):194-195.
- [10] 梁涛,张晓宝,张德太,等. 3 项指标联合检测在糖尿病肾病中的早期诊断价值[J]. 临床血液学杂志,2019,32(4):247-251.
- [11] 吴贵福,高珊,董春萍. 2 型糖尿病血清血管生成素样蛋白 2、4 水平与颈动脉斑块性质的相关性研究[J]. 海南医学院学报,2016,22(21):2605-2608.
- [12] ACHARI A E, JAIN S K. Adiponectin, a therapeutic target for obesity, diabetes, and endothelial dysfunction[J]. Int J Mol Sci,2017,18(6):1321-1326.
- [13] 张计划,吴燕,徐萌. 糖尿病肾病严重程度与尿脂联素的相关性及临床意义[J]. 海南医学,2018,46(7):926-929.
- [14] 周瑞君,李兴,张巍. 2 型糖尿病肾病患者不同分期血清脂联素水平及影响因素分析[J]. 中国实用医药,2015,10(25):42-43.
- [15] 李文娜,崔静,于晓,等. 2 型糖尿病肾病患者血清及尿液血管生成素样蛋白 4 的表达变化及意义[J]. 山东医药,2016,56(29):47-49.
- [16] UNAL S, KOTAN C, DELIBAS A, et al. Cystatin C, β_2 microglobulin, N-Acetyl-beta-D-glucosaminidase, retinol-binding protein, and endothelin 1 levels in the evaluation of sickle cell disease nephropathy[J]. Pediatr Hematol Oncol,2015,32(4):250-257.
- [17] 詹颢,张华,闫福堂,等. 血清 NGAL 与 Cr, BUN, RBP, Cys-C 联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J]. 现代检验医学杂志,2016,31(4):100-103.
- [18] 张如霖,王弘明,彭霞,等. 血清淀粉样蛋白 A、胱抑素 C 与尿白蛋白/肌酐比值联合检测在早期 DKD 中的诊断价值[J]. 检验医学,2018,33(2):97-100.

(收稿日期:2020-01-06 修回日期:2020-05-08)